

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDE SUR L'ENCÉPHALO-MYÉLITE PROVOQUÉE PAR LE *TOXOPLASMA CUNICULI*

par C. LEVADITI

en collaboration avec

V. SANCHIS-BAYARRI et P. LÉPINE

(pour la partie expérimentale)

et M<sup>lle</sup> R. SCHOEN

(pour la partie histologique).

(DEUXIÈME MÉMOIRE) [1]

### CHAPITRE PREMIER

#### L'immunité et son mécanisme.

L'infection toxoplasmique peut créer l'état réfractaire. Celui-ci apparaît soit à la suite de l'inoculation du virus dans le névraxe, soit après introduction du même virus dans la chambre antérieure de l'œil, dans le derme, ou encore dans la circulation sanguine. En général, lorsque l'animal survit après avoir reçu dans l'encéphale une dose d'émulsion virulente, mortelle pour d'autres lapins neufs, il acquiert une résistance telle qu'il sup-

(1) Voy. notre premier Mémoire, ces *Annales*, 43, 1929, p. 673.

porte, sans nul trouble apparent, plusieurs injections consécutives pratiquées de la même manière.

Nous avons essayé de préciser dans quelles conditions naît et se développe cette immunité antitoxoplasmique et quel peut être son mécanisme.

#### I. — CONDITIONS OU APPARAÎT L'ÉTAT RÉFRACTAIRE.

Envisageons, tour à tour, l'inoculation transcranienne, intradermique et intraveineuse.

A. — INOCULATION TRANSCRANIENNE. — Au cours de nos nombreuses expériences, comportant plusieurs centaines de lapins, nous avons vu apparaître et se développer l'état réfractaire (après inoculation intracérébrale) chez neuf lapins. Ceux-ci ont résisté non seulement à la première injection intranévraxique, mais encore à une, deux et même trois inoculations d'épreuve, mortelles pour les témoins.

EXPÉRIENCE 18. — *Une seule inoculation d'épreuve.*

a) *Lapin 816 A.* — Inoculé par voie intracérébrale avec une émulsion de cerveau du lapin 690 A, sacrifié le quatorzième jour. Aucun trouble apparent. *Nouvelle inoculation virulente le trente-sixième jour.* Résiste pendant seize jours. Absence de Toxoplasmes sur frottis et sur coupes; passage négatif sur le lapin 186 B.

b) *Lapin 277 B.* — Inoculé par voie intracérébrale avec une émulsion de cerveau du lapin 237 B, riche en parasites. Aucun trouble apparent. *Réinfecté vingt-sept jours après*, il survit trente-sept jours. Absence de Toxoplasmes sur frottis et sur coupes.

c) *Lapin 965 B.* — Inoculation intracérébrale bien supportée. *Réinfection trente-neuf jours après.* Survit.

EXPÉRIENCE 19. — *Deux inoculations d'épreuve.*

a) *Lapin 688 A.* — Inoculation intracérébrale, suivie de quelques troubles nerveux passagers. *Première infection d'épreuve cinquante jours après.* Aucun effet. *Deuxième infection d'épreuve le soixante-quinzième jour.* Même résultat. L'animal est sacrifié cent jours après la première inoculation.

b) *Lapin 979 A.* — Inoculation intracérébrale d'un virus qui tue le témoin en onze jours. Bien supportée. *Première infection d'épreuve le trente-quatrième jour.* Même résultat. *Deuxième infection d'épreuve le soixante-troisième jour.* L'animal est sacrifié ultérieurement. Absence de Toxoplasmes. Passage négatif.

c) *Les lapins 238 B et 437 B* se comportent comme les précédents.

EXPÉRIENCE 20. — *Trois inoculations d'épreuve.*

*Lapin 275 B.* — Inoculation intracérébrale d'un virus qui tue le lapin témoin en cinq jours. Aucun trouble apparent. *Deuxième infection d'épreuve*



le vingt-deuxième jour. Bien supportée. Troisième inoculation d'épreuve le quarantième jour. L'animal succombe quarante-six jours après cette dernière inoculation. Absence de parasites sur frottis et sur coupes. Passage négatif sur le lapin 99 C.

Il s'agit, en résumé, d'animaux qui, sans nulle préparation antérieure, ont parfaitement supporté une inoculation virulente sous-dure-mérienne et qui, par la suite, se sont montrés réfractaires à l'égard d'une, deux, voire même trois infections d'épreuve. Une question se pose : *s'agit-il, en l'occurrence, de lapins spontanément résistants, ou bien de sujets offrant une certaine immunité naturelle, capable de s'accroître par la suite et de se transformer en un état réfractaire absolu?* Le fait que chez tous nos lapins immuns, quel que soit le moment pris en considération, l'examen histologique a révélé la présence de lésions névrauxiques caractéristiques, *mais non parasitées*, nous incite à souscrire à la seconde de ces hypothèses et à considérer l'état réfractaire *mi-inné, mi-acquis et complété ultérieurement* (1). Ce qui le prouve, c'est que certains lapins ayant résisté à une première inoculation intracérébrale ont succombé à la suite d'une infection d'épreuve pratiquée quelque temps après. Leur état réfractaire initial n'était donc que partiel; ne s'étant pas amplifié, il a été incapable d'assurer la destruction d'un germe plus virulent, administré peu après. L'expérience 21 en fournit un exemple :

EXPÉRIENCE 21. — *Lapin 285 C.* Première inoculation intracérébrale bien supportée. La seconde infection d'épreuve, pratiquée quarante jours après la première, tue l'animal en sept jours. Passage positif sur le lapin 678 B.

B. — INOCULATION INTRA-OCULAIRE (*Chambre antérieure et chambre postérieure*). — Plusieurs de nos lapins inoculés dans la *chambre antérieure* de l'œil et ayant présenté les réactions caractéristiques décrites dans notre premier Mémoire se sont montrés, par la suite, réfractaires à l'égard d'une inoculation transcranienne mortelle pour les témoins. Ci-après, quelques-unes de nos observations :

EXPÉRIENCE 22. — *Lapin 323 B.* Inoculation dans la chambre antérieure. Conjonctivite du limbe, irido-cyclite, exophtalmie, opalescence centrale du cris-

(1) Il est possible que des infections toxoplasmiques spontanées inapparentes aient créé cet état d'immunité partielle.

tallin, dilatation pupillaire. Inoculation d'épreuve (voie intracérébrale) trente-six jours après. Aucun trouble apparent.

*Lapin 326 D.* — Même inoculation, même résultat. Première épreuve (voie intracérébrale) le trente-sixième jour. Aucun trouble apparent. Deuxième essai (même voie) le cinquante-cinquième jour. Aucun effet.

Il en a été de même d'un lapin inoculé dans la *chambre postérieure*, dont voici l'observation :

EXPÉRIENCE 23. — *Lapin 226 B*, inoculé dans la chambre postérieure de l'œil droit. Exophtalmie, conjonctivite de la paupière inférieure, pupille contractée, opacité du cristallin, œil déformé, conique, exorbité. Par la suite, nécrose centrale de la cornée. *Inoculation d'épreuve* (injection intracérébrale) cinquante jours après. Aucun trouble apparent.

Il s'ensuit que, *dans certaines conditions, des lapins infectés par voie intra-oculaire, ayant présenté des lésions ophtalmiques d'intensité variable, deviennent réfractaires à l'égard d'une inoculation virulente pratiquée dans l'encéphale.* Le fait que de tels animaux réagissent localement lors de la première infection montre bien, à notre avis, qu'il ne s'agit pas de sujets entièrement réfractaires d'emblée, mais d'animaux ayant acquis, puis intensifié leur immunité. Il en résulte que le même mécanisme devra être invoqué quant à la genèse de l'immunité, après introduction du virus dans le système nerveux central.

C. — INOCULATION INTRADERMIQUE. — Nous avons décrit dans notre premier Mémoire les caractères et l'évolution des lésions cutanées déterminées par l'inoculation intradermique du virus toxoplasmique. Certains des lapins infectés de cette manière se sont montrés, par la suite, réfractaires à l'égard d'une injection transcranienne du même virus. En voici un exemple :

EXPÉRIENCE 24. — *Lapin 242 D*, inoculé par voie intradermique (peau du flanc, préalablement épilée). Le troisième jour, apparition de papules, rougeâtres d'abord, blanchâtres et acuminées par la suite. Ces lésions cutanées se résorbent, sans suppurer, vers le vingt et unième jour. *Première épreuve* (inoculation intracérébrale) le vingt-neuvième jour. *Aucun trouble apparent.* *Deuxième épreuve* (également intracérébrale) le quarante-septième jour. Parfaitement supportée.

*L'inoculation virulente intradermique peut donc engendrer l'immunité névrazique.*



D. — INOCULATION INTRAVEINEUSE. — *Il en est de même de l'inoculation intraveineuse, surtout lorsqu'une telle inoculation est accompagnée d'une injection de bouillon dans l'encéphale.*

EXPÉRIENCE 25. — *Lapin 692 A.* Inoculation intraveineuse d'une émulsion de cerveau riche en Toxoplasmes (préalablement clarifiée par centrifugation). Simultanément, injection de 0 c. c. 5 de bouillon par voie transcranienne. Aucun trouble apparent. *Première épreuve* intracérébrale le cinquante et unième jour. Nulle réaction. *Deuxième épreuve*, pratiquée de la même manière, le soixante-seizième jour. Parfaitement supportée. L'animal succombe quinze jours après cette dernière inoculation. Absence de parasites sur frottis et sur coupes.

\*  
\* \*

Ce sont là les principales circonstances où se manifeste l'état réfractaire antitoxoplasmique. Un fait apparaît prédominant : c'est que *l'immunité n'intéresse pas exclusivement le système tissulaire, qui, le premier, se trouve aux prises avec le virus-antigène; tous les autres tissus réceptifs participent à cet état réfractaire, lequel revêt les caractères d'une « pan-immunité »*. Ainsi, l'inoculation du germe dans le cerveau réalise l'immunité de l'œil, celle pratiquée dans le globe oculaire engendre la résistance du cerveau, enfin l'introduction du virus dans le derme provoque l'état réfractaire de l'encéphale. Nous avons déjà cité des exemples entrant dans ces deux dernières catégories; apportons-en d'autres se référant à l'immunité oculaire consécutive à l'injection du virus-antigène dans le névraxe.

EXPÉRIENCE 26. — *Lapin 677 B*, reçoit une inoculation virulente dans le cerveau sans montrer nul trouble apparent. Il est éprouvé, par voie transcranienne, le soixante-sixième jour. Cette épreuve est parfaitement tolérée. Le soixante-douzième jour on lui inocule dans la *chambre antérieure* un virus toxoplasmique déterminant, chez le témoin, une irido-cyclite intense. Aucune réaction, ni locale, ni générale.

*Lapin 628 B*. — Infection par voie intracérébrale et survie. *Première épreuve* encéphalique le vingtième jour. Parfaitement supportée. *Deuxième épreuve* pratiquée de la même manière, le soixante-quatrième jour : même résultat. Enfin, le soixante-dixième jour, on lui inocule dans la *chambre antérieure* 0 c. c. 2 d'émulsion névraxique riche en Toxoplasmes. Aucune réaction, ni locale, ni générale.

*Les animaux peuvent donc acquérir l'immunité, quel que soit le système tissulaire réceptif qui, le premier, reçoit le choc immunisant de l'antigène : encéphale, œil, revêtement cutané,*

voire même l'ensemble de l'organisme (ainsi qu'il advient lorsque le virus est administré par voie sanguine). Cet état réfractaire revêt les caractères d'une « pan-immunité », le tissu impressionné par l'antigène n'étant pas le seul à le posséder.

*Peut-on créer une résistance semblable, en administrant aux lapins du virus toxoplasmique préalablement tué par un chauffage à 55°?* L'expérience répond négativement, ainsi qu'il ressort des protocoles suivants :

EXPÉRIENCE 27. — a) *Voie intracérébrale.* Lapin 498 B, reçoit à quatre reprises 0 c. c. 2 d'une émulsion névrauxique riche en Toxoplasmes, préalablement chauffée pendant trente minutes à 55°. Trente-six jours après la première inoculation vaccinale, épreuve intracérébrale avec du virus frais. L'animal succombe le quatrième jour. Frottis et passage (Lapin 813 B, mort le troisième jour) positifs.

Lapin 500 Y, même dispositif expérimental, même résultat.

b) *Voie sous-cutanée.* Lapin 499 B, reçoit quatre injections sous-cutanées de 2 cent. cubes du même virus tué. Epreuve intracérébrale le trente-sixième jour. L'animal succombe le cinquième jour. Frottis et coupes positifs.

Il en résulte que *l'état réfractaire antitoxoplasmique, relativement aisé à obtenir et à amplifier lorsqu'il s'agit d'animaux qui survivent à une inoculation de virus vivant (peu importe la voie d'introduction utilisée), ne se développe pas quand on se sert de germes tués par la chaleur.* De ce point de vue, une analogie frappante apparaît entre le *Toxoplasma cuniculi* et certains virus appartenant au groupe des « Ectodermoses neurotropes », tels que le *neurovaccin*, le *virus poliomyélitique* et celui de l'*herpès*. Levaditi et Sanchis-Bayarri (1) ont, en effet, montré que le virus neurovaccinal, ayant perdu sa vitalité sous l'influence de l'éther ou du formol, n'immunise pas le lapin. On sait, d'autre part, que la vaccination du singe contre la poliomyélite est difficilement réalisable, lorsqu'on emploie des émulsions névrauxiques soumises au chauffage à 55° [Landsteiner et Levaditi (2)], et, cependant, les simiens qui survivent à une attaque de paralysie infantile expérimentale se montrent parfaitement réfractaires. Enfin, il en est de même de l'*herpès* ou du virus herpéto-encéphalitique [Levaditi, Harvier et Nicolau (3)].

(1) LEVADITI et SANCHIS-BAYARRI. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 98, 1928, p. 829.

(2) LANDSTEINER, LEVADITI et PASTIA. *Ces Annales*, 25, 1911, p. 804.

(3) LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. *Ces Annales*, 36, 1922, p. 63.



## II. — MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ ANTITOXOPLASMIQUE.

Afin de préciser ce mécanisme, nous avons étudié d'abord le sort des *Toxoplasmes* introduits, d'une part, dans l'encéphale des animaux neufs, d'autre part, dans le cerveau de sujets s'étant montrés parfaitement réfractaires. Des expériences analogues ont été réalisées par Levaditi et Nicolau (1) avec le neurovaccin. Elles ont montré que chez les lapins neufs le germe neurovaccinal, injecté dans l'encéphale, s'y adapte à partir des premières vingt-quatre heures, puis y pullule avec une intensité progressive. Par contre, chez les animaux vaccinés, le névraxe détruit ce germe dès la deuxième heure qui suit l'inoculation. Le système nerveux, dont l'immunité tissulaire acquise participe à l'état réfractaire de l'ensemble de l'organisme, exerce donc à l'égard du germe une action destructive immédiate et totale, comme s'il jouissait de quelque propriété virulicide spécifique. La preuve en est que le même système nerveux neutralise le neurovaccin, non seulement *in vivo*, mais aussi dans le tube à essai. Ces expériences ont été confirmées récemment par Andrewes (2), lequel s'est servi d'un virus provoquant l'orchite chez le lapin. L'auteur montre que le testicule des animaux réfractaires détruit le germe en deux heures, à un moment où le même germe pullule déjà activement dans le parenchyme testiculaire des sujets neufs.

Comment se comportent, de ce point de vue, les animaux vaccinés contre le *Toxoplasma cuniculi*? Nous avons disposé l'expérience de la manière suivante (3) :













EXPÉRIENCE 28. — Six lapins ayant acquis l'état réfractaire après injections virulentes dans le cerveau, ou dans l'œil, et éprouvés à une ou plusieurs reprises, d'une part ; six animaux neufs, d'autre part, reçoivent, au même moment, 0 c. c. 25 d'une émulsion névraxique riche en *Toxoplasmes* (voie intracérébrale). Deux, six, vingt-deux, quarante-six, soixante-dix et quatre-vingt-quatorze heures après l'inoculation, on sacrifie un lapin de chaque série. L'encéphale sert à faire des frottis, à préparer une émulsion épaisse (eau salée isotonique) et à être examiné histologiquement. L'émulsion est inoculée par voie transcranienne à un ou à deux lapins neufs. Les résultats enregistrés sont consignés dans le tableau ci-après (V. tableau 1).

(1) LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, 37, 1923, p. 4.

(2) ANDREWES. *Journ. of Pathol. and Bacteriol.*, 31, 1928, p. 461.

(3) LEVADITI, LÉPINE et SCHOEN. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99, 1928, p. 1219.

Ce tableau, ainsi que le schéma I qui en résume les principales données, montre que *les Toxoplasmes introduits dans l'encéphale des lapins résistants y sont détruits dès la deuxième heure*. Ni l'examen sur frottis ou sur coupes, ni l'inoculation du cerveau à d'autres animaux neufs (voie transcranienne) ne permettent de les y déceler. Nous n'avons constaté qu'une seule exception : celle du *lapin 226 B*, immunisé par voie oculaire et sacrifié après soixante-dix heures. Son encéphale ne

<u>I</u>	<u>N</u>
 2 <sup>h</sup> 30	 lés. ⊕
 6 <sup>h</sup>	 lés. ⊕
 22 <sup>h</sup>	 lés. ⊕
 46 <sup>h</sup> 30	 lés. ++
 70 <sup>h</sup>	 lés. ++++
 94 <sup>h</sup>	 lés. ++++

SCHEMA I. — Sort des Toxoplasmes inoculés dans le cerveau de lapins neufs (N) et de lapins réfractaires (I). Blanc = virulence nulle ; hachures = virulence atténuée ; noir = virulence très marquée.

contenait pas de parasites, mais l'inoculation à deux animaux neufs a fourni un résultat positif. La destruction des Toxoplasmes s'est donc opérée plus lentement chez ce lapin, très probablement parce que son état réfractaire était moins prononcé.

Chez les *animaux neufs*, le processus comporte deux phases :

*Première phase, évoluant entre la première et la quarante-sixième heure.* Au cours de cette phase, que nous appellerons « *phase d'attente* », les Toxoplasmes essayent de s'adapter à



TABLEAU I. — Sort des *Toxoplasmes* inoculés dans l'encéphale des lapins vaccinés et des animaux neufs.

TEMPS ÉCOULÉ DEPUIS L'INJECTION JUSQU'AU MOMENT DE L'EXAMEN				
2 h. 30	6 heures	22 heures	46 heures	70 heures
<i>Lapins vaccinés :</i>				
<i>Lap. 965 B</i> vacciné par voie cérébrale. Parasites : Zéro. Passage : <i>Lapin 131 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 212 B</i> vacciné par voie cutanée. Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 139 E</i> : le 9 <sup>e</sup> jour. Frottis, coupes et passages négatifs.	<i>Lap. 323 B</i> vacciné par voie oculaire. Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 141 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 326 B</i> vacciné par voie oculaire. Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 450 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 543 B</i> vacciné par voie oculaire. Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 175 C</i> : <i>Mort</i> le 13 <sup>e</sup> jour. Parasites : Zéro. <i>Lap. 186 C</i> : <i>Survit.</i>
<i>Lapins neufs :</i>				
<i>Lap. 122 C</i> . Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 132 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 125 C</i> . Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 135 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 127 C</i> . Parasites : Zéro. Passage : <i>Lap. 140 C</i> : <i>Survit.</i>	<i>Lap. 128 C</i> . Rares parasites. Passage : <i>Lap. 445 C</i> : <i>Mort</i> le 11 <sup>e</sup> jour. Lésions et parasites positifs.	<i>Lap. 129 C</i> . Parasites présents. Passage : <i>Lap. 473 C</i> : <i>Mort</i> le 6 <sup>e</sup> jour. Parasites et lésions positifs.
			<i>Lap. 126 C</i> . Parasites présents. Passage : <i>Lap. 463 C</i> : <i>Mort</i> le 5 <sup>e</sup> jour. Parasites positifs.	<i>Lap. 124 C</i> . Parasites présents. Passage : <i>Lap. 464 C</i> : <i>Mort</i> le 16 <sup>e</sup> jour. Parasites et lésions positifs.
				<i>Lap. 184 C</i> : <i>Mort</i> le 6 <sup>e</sup> jour. Parasites et lésions positifs.

l'encéphale, sans cependant réussir à y pulluler d'une manière suffisante pour qu'ils puissent être décelés microscopiquement. Il est vraisemblable que le changement brusque de milieu réalise, au début, des conditions défavorables à la bipartition des tomontes.

*Deuxième phase, succédant immédiatement à la précédente.* Les difficultés d'adaptation s'effacent. Les germes pullulent lentement d'abord, abondamment ensuite. Leur multiplication provoque déjà les altérations caractéristiques de l'encéphalomyélite toxoplasmique. Les passages deviennent régulièrement positifs.

L'examen histologique du cerveau de ces animaux nous a permis d'enregistrer les constatations que voici :

*Deuxième heure* : Aucune lésion des méninges, du cerveau ou des plexus. Légère desquamation des cellules épendymaires. *Absence de parasites.*

*Sixième heure* : Exsudation séreuse dans les ventricules, avec quelques rares monocytes. *Absence de parasites.*

*Vingt-deuxième heure* : Accumulation de rares lymphocytes, cellules plasmiques et gros mononucléaires à l'intérieur des ventricules. Exsudation séreuse et légères hémorragies dans les sinus latéraux. Nulle altération de l'épendyme. *Absence de parasites.*

*Quarante-sixième heure* : Manchons périvasculaires, méningite monocyttaire des septums, lymphocytes libres dans les ventricules latéraux, méningite basilaire. *Parasites libres dans les plaques méningitiques.*

*Soixante-dixième heure* : Méningite basilaire et corticale à monocytes, exsudation séreuse et diapédèse lymphocytaire dans les ventricules latéraux. A la base, près de la dure-mère, des *Toxoplasmes libres ou intracellulaires*. Mobilisation de la microglie au voisinage des parois ventriculaires.

*Quatre-vingt-quatorzième heure* : Lésions typiques d'encéphalite toxoplasmique. Très nombreux parasites libres ou intracellulaires.

Ces données montrent qu'après inoculation intracérébrale de *Toxoplasmes* à des lapins neufs, des altérations microscopiques, encore peu caractéristiques, apparaissent dès la vingt-deuxième heure, alors que ni les frottis, ni les coupes, ni même les passages ne révèlent une multiplication tant soit peu manifeste des *Toxoplasmes*. L'éclosion des lésions typiques d'encéphalite coïncide avec la pullulation active des germes, laquelle a lieu entre la soixante-dixième et la quatre-vingt-quatorzième heure. *Il apparaît vraisemblable que les modifications peu caractéristiques du début constituent une réaction tissulaire exsudative et inflammatoire non spécifique, déterminant l'arrêt éphémère de la bipartition des tomontes.*



CONCLUSIONS. — Les *Toxoplasmes* introduits dans le névraxe des lapins vaccinés y subissent une destruction rapide et totale, et cela dès la deuxième heure. L'état réfractaire acquis confère au tissu nerveux un pouvoir antiparasitaire intense, appréciable *in vivo*.

En est-il de même *in vitro* ?

\*  
\* \*

Nous avons recherché si l'état réfractaire antitoxoplasmique acquis est lié à des propriétés parasitocides des humeurs (sérum), ou des tissus (névraxe), décelables dans le tube à essai.

TABLEAU II. — Action neutralisante du sérum *in vitro*.

SÉRUM	ANIMAUX INOCULÉS
<i>Premier essai :</i>	
688 C. 2 heures à 37°.	324 B, cerveau : Mort le 9 <sup>e</sup> jour. Parasites +. 323 B, œil : Réaction +. Vacciné.
688 C. 2 heures à 37° et 18 heures glacière.	329 B, cerveau : Mort le 13 <sup>e</sup> jour. Parasites +. 330 B, œil : Mort le 18 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
Sérum normal.	331 B, cerveau : Mort le 12 <sup>e</sup> jour. Parasites +. 333 B, œil : Réaction +. Vacciné.
<i>Deuxième essai :</i>	
677 B.	592 C, cerveau : Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Parasites +. 593 C, cerveau : Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
Sérum normal.	594 C, cerveau : Mort le 14 <sup>e</sup> jour. Parasites +. 595 C, cerveau : Mort le 14 <sup>e</sup> jour. Parasites +.

Le sérum des animaux vaccinés a été examiné du point de vue de ses qualités préventives, après injection par voies rachidienne ou intraveineuse. En outre, nous avons entrepris des essais de neutralisation du virus toxoplasmique *in vitro*. Par ailleurs, des expériences analogues ont été réalisées avec la substance nerveuse des lapins immunisés. Disons tout de suite

que ces expériences ont fourni des résultats complètement négatifs, ainsi qu'il résulte des protocoles suivants :

EXPÉRIENCE 29. — a) *Action neutralisante du sérum. Premier essai* ; sérum du lapin 688 C, vacciné par voie cérébrale, éprouvé deux fois. Mélange de 2 cent. cubes de sérum spécifique ou de sérum normal et de 2 cent. cubes d'une émulsion névrauxique riche en Toxoplasmes. Contact pendant deux heures à 37°. Inoculation intracérébrale et intraoculaire. *Deuxième essai* : émulsion d'un demi-cerveau contenant des Toxoplasmes dans 20 cent. cubes

TABLEAU III. — Action préventive du sérum.

SÉRUM	ANIMAUX INOCULÉS
<i>Injection de sérum dans les veines :</i>	
268 B.	579 C, cerveau (1) : Mort le 10 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
677 B.	581 C, cerveau : Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
Normal.	588 C, cerveau : Mort le 10 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
<i>Injection de sérum dans le canal rachidien :</i>	
268 B.	{ 583 C, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +. { 584 C, cerveau : Mort le 6 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
677 B.	{ 582 B, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +. { 585 B, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
(1) Deux essais faits par voie intra-oculaire ont paru montrer une certaine action préventive du sérum.	

eau salée isotonique. Mélange de 2 cent cubes de sérum du lapin vacciné 677 B (voie intracérébrale, éprouvé par voie encéphalique et oculaire) et de 2 cent. cubes émulsion virulente. Contact pendant deux heures à 37° et dix-huit heures à la glacière. Inoculation intracérébrale (V. tableau II).

Nous avons, de plus, étudié l'action préventive du sérum. Sérums des lapins vaccinés 268 B (voie intracérébrale, épreuve encéphalique et oculaire) et 677 B. Des lapins neufs reçoivent, les uns 10 cent cubes de sérum spécifique en injection intraveineuse, les autres 0 c. c. 5 du même sérum par voie intrarachidienne. Les animaux sont infectés au même moment par voie intracranienne (V. tableau III).

b) *Action neutralisante du cerveau. — Premier essai* : encéphale du lapin vacciné 688 C. 5 grammes de cerveau + 9 cent. cubes eau salée isotonique. 2 cent. cubes de cette émulsion sont mélangés à 2 cent. cubes d'émulsion cérébrale virulente. Contact pendant deux heures à 37° et dix-huit heures à la glacière. On procède de la même manière avec une émulsion de cerveau normal. Inoculation des mélanges à des lapins neufs, par voie trans-



crânienne (V. tableau IV). *Deuxième essai* : encéphales des lapins vaccinés 628 B et 677 B. Emulsion d'un demi-cerveau dans 20 cent. cubes d'eau salée. 2 cent. cubes de cette émulsion sont mélangés à 2 cent. cubes d'une émulsion névraque virulente. Contact pendant deux heures à 37° et vingt heures à la glacière. Inoculation des mélanges à des lapins neufs par voie transcrânienne (V. tableau IV).

Il résulte de l'ensemble de ces constatations que *l'état réfractaire des animaux jouissant d'une immunité antitoxoplasmique effective n'est pas lié à des propriétés parasitocides du sérum, ni même du névraxe, pouvant être mises en évidence in vitro.*

TABLEAU IV. — **Action neutralisante du cerveau in vitro.**

ENCÉPHALE	ANIMAUX INOCULÉS
<i>Premier essai :</i>	
688 C.	} 874 B, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +. } 880 B, cerveau : Mort le 7 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
Normal.	876 B, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
<i>Deuxième essai :</i>	
628 B.	} 596 C, cerveau : Mort le 9 <sup>e</sup> jour. Parasites +. } 597 C, cerveau : Mort le 8 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
677 B.	599 C, cerveau : Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Parasites +.
Normal.	} 600 C, cerveau : Mort le 5 <sup>e</sup> jour. Parasites +. } 601 C, cerveau : Mort le 11 <sup>e</sup> jour. Parasites +.

Nous nous trouvons ainsi devant ce fait, en apparence paradoxal (différent de ce que nous avons établi au sujet du neurovaccin), à savoir *qu'un encéphale qui, in anima vili, détruit en quelques minutes des quantités considérables de Toxoplasmes est incapable d'en faire autant une fois qu'il est séparé de l'organisme. Les propriétés parasitocides sont donc éminemment vitales et indépendantes de l'action germicide des humeurs, voire même des tissus eux-mêmes, considérés extra vitam (laquelle est, d'ailleurs, totalement nulle). En quoi consistent-elles?*

Une constatation nous a frappés au cours de nos essais, tant par sa grande constance que par sa signification. Chaque fois que l'on examine microscopiquement le névraxe (en particulier l'encéphale) d'animaux jouissant d'une immunité antitoxo-

plasmique solide, on remarque qu'il est le siège d'altérations caractéristiques, quoique d'intensité variable, et cela quel que soit le point de départ de l'immunité : encéphalique, oculaire, cutanée ou intraveineuse. Voici, à titre d'exemple, quelques protocoles résumant les caractères de ces altérations :

PROTOCOLE. — *Lapin 688 A* (vacciné par voie cérébrale; sacrifié le centième jour). *Cerveau* : les ventricules latéraux sont très dilatés. A certains endroits, l'épithélium épendymaire est hypertrophié, vacuolisé, disposé en plusieurs assises. Par ailleurs, cet épithélium est totalement desquamé et remplacé par un syncytium des cellules polygonales séparées, çà et là, par des monocytes. Il forme également des bourgeons ayant l'aspect de pseudo-cellules géantes. Certains vaisseaux sont entourés de manchons lymphocytaires. Inflammation chronique des plexus. Au niveau du mésocéphale, présence d'un nodule assez bien circonscrit, constitué par des lymphocytes, des cellules épithélioïdes et une masse centrale pseudo-cristalline (*calisum*). Présence de cellules granulo-adipeuses, méningite corticale et des septums. *Bulbe* : altérations épendymaires et péri-épendymaires. Nodules monocytaires périvasculaires. Absence totale de parasites. Passages négatifs.

Des altérations analogues existaient chez la plupart des animaux vaccinés, puis sacrifiés après avoir subi, avec succès, l'épreuve de l'inoculation intracérébrale ou intraoculaire.

Il est donc évident que l'état réfractaire du névraxe fait son éclosion et réussit à se parfaire par suite de la pénétration du virus-antigène dans le parenchyme nerveux. Le passage éphémère de ce virus dans un tissu destiné à acquérir l'immunité ne s'effectue pas sans laisser de traces. Celles-ci sont représentées par les altérations méningitiques, parenchymateuses et vasculaires dont il vient d'être question. Tout se passe donc comme dans l'immunité acquise du système nerveux à l'égard du *neurovaccin*, si l'on se rapporte aux constatations, déjà anciennes, de Levaditi et Nicolau (*loc. cit.*).

Or, dans notre esprit, ce sont ces réactions cellulaires névraxiques latentes qui constituent l'« *arme défensive* » dont le parenchyme nerveux se servira pour détruire les parasites, lorsque ceux-ci auront pénétré dans l'encéphale des sujets immuns. Leucocytes, lymphocytes, cellules névrogliales ou microgliales, sont là, prêts à être mobilisés en cas d'attaque. C'est ce qui arrive en réalité, attendu que cette mobilisation et cette exacerbation des réactions cellulaires locales, nous les avons révélées chez nos animaux immunisés et sacrifiés, chaque fois qu'ils étaient en voie de détruire les *Toxoplasmes* inoculés dans leur cerveau.

CONCLUSIONS. — Dans la Toxoplasmose, comme dans les infections herpétique (1) ou neurovaccinale, l'immunité est éminemment de nature cellulaire. Chaque système tissulaire se défend pour son compte, par des moyens qui lui appartiennent en propre. L'organe devient apte à entreprendre la lutte antipara-



FIG. 1. — Culture cellulaire. Cerveau de poussin. Plasma de poule. Culture âgée de 11 jours. Toxoplasmes libres et inclus dans les monocytes. Gross. = 800.

sitaire et à vaincre, pour la raison qu'à un moment donné il s'est trouvé aux prises avec le virus-antigène, et que ce virus y a provoqué des altérations appelées à subsister aussi longtemps que dure l'immunité. Un état de mobilisation cellulaire latente constitue l'arme défensive dont le névraxe se sert chaque fois qu'il se trouve en présence du virus contre lequel il est solidement immunisé.

(1) LEVADITI. *Herpès et zona*, Paris, Masson, éditeur, 1926, p. 281.



## CHAPITRE II

Essais de culture des Toxoplasmes  
en présence de tissus *in vitro*.

L'impossibilité de cultiver le *Toxoplasma cuniculi* sur les milieux artificiels les plus appropriés à la culture des protozoaires nous a conduits à nous servir de la méthode des cultures cellulaires *in vitro*, méthode qui a permis à l'un de nous [Levaditi (1)] la culture des virus poliomyélitique, rabique, vaccinal et herpéto-encéphalitique. Nous avons obtenu des résultats intéressants, ce qui nous a encouragés à poursuivre ces recherches. Nous nous sommes servis, soit de cerveau de pigeon contaminé de Toxoplasmes, soit d'encéphale de poussins atteints de Toxoplasmose, que nous avons cultivés dans du plasma de poule, avec ou sans addition de fragments d'embryons de poulet. Voici quelques-unes de nos expériences :

EXPÉRIENCE 30. — **Cerveau de pigeon** (parasites +++). Addition d'embryon de poulet. Quatre boîtes de Borrel. Culture cellulaire abondante dès le troisième jour.

BOITE I		BOITE II	
Culture 3 jours	Passage cérébral	Culture 7 jours.	Passage cérébral
Frottis : +++.	Lapin mort le 8 <sup>e</sup> jour. Frottis et coupes : Parasites +++.	Coupes : Kystes parasitaires.	Lapin mort le 10 <sup>e</sup> jour. Frottis et coupes : Parasites +++.
BOITE III		BOITE IV	
Culture 9 jours	Passage cérébral	Culture 10 jours	Passage cérébral
Coupes : Parasites libres rares.	Lapin mort le 6 <sup>e</sup> jour. Frottis et coupes : Parasites +++.	Coupes : Parasites intra-cellulaires. Cellules géantes.	Passage négatif.

(1) LEVADITI. *C. R. Acad. Sc.*, **159**, 1914, p. 284; *C. R. Soc. Biol.*, **74**, 1913, p. 1179; LEVADITI, HARVIER et NICOLAU. *Ces Annales*, **36**, 1922, p. 63.

Cette expérience, répétée à huit reprises avec des résultats plus ou moins analogues, montre que les *Toxoplasmes* se multiplient au contact de tissus cultivés *in vitro* et qu'ils conservent leur virulence à 37°, au moins pendant neuf jours. On en décèle sur coupes, soit à la phase de tomites, libres, épar-

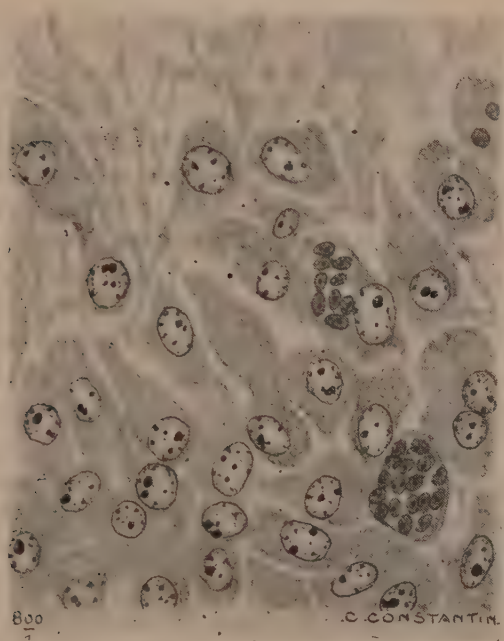


FIG. 2. — Culture de *Toxoplasmes* en symbiose avec des cellules du cerveau de pigeon et d'embryon de poulet. Série 11. Culture de 10 jours. *Toxoplasmes* dans les cellules épithéliales. Gross. 800/1.

pillés dans le plasma, au voisinage des fibroblastes, soit au stade schizogonique, inclus dans les mononucléaires, ou encore dans les cellules épithéliales de certains fragments d'embryons de poulet (V. fig. 1 et 2).

Alors que, parfois, nous n'avons pas décelé de parasites sur coupes, l'inoculation de la culture à des lapins (voie intracérébrale) a été suivie d'une encéphalomyélite toxoplasmique mortelle. Dans certaines expériences, les ensemencements de boîte à boîte nous ont fourni des résultats positifs. Ces données



paraissent démontrer que la méthode des cultures cellulaires *in vitro* est appelée à faciliter la pullulation du *Toxoplasma cuniculi* hors de l'organisme. Nous poursuivons ces essais (1).

### Conclusions générales.

*L'étude de l'encéphalo-myélite provoquée chez le lapin, le cobaye, le pigeon, la souris, le rat, par le Toxoplasma cuniculi, fournit des résultats particulièrement intéressants, transposables en pathologie humaine. Elle est appelée à élucider certains problèmes étiologiques du domaine de la neuropathologie, en particulier ceux qui se rattachent à l'hydrocéphalie et à certaines encéphalites héréditaires congénitales. La certitude de la pénétration de certains de ces protozoaires dans le cytoplasma des neurones (Neuroprotozooses) est fournie par les constatations résumées dans nos Mémoires. Elle rend de plus en plus vraisemblable la nature microsporidienne du virus rabique, dont les corps de Négri représentent, d'après nous, une des phases évolutives (phase pansporoblastique) de la Glugea lyssæ (Levaditi, Nicolau et Schoen). Enfin, nos recherches permettent d'approfondir le mécanisme de l'immunité acquise du névraxe, immunité exclusivement tissulaire, éminemment vitale et indépendante des propriétés parasitocides des humeurs.*

(Institut Pasteur et fondation Matheson.)

(1) De nombreuses tentatives thérapeutiques ont été réalisées au cours de nos investigations expérimentales, avec le moranyl (205 Bayer, 309 Fourneau), la quinine et le stovarsolate de quinine, le tryparsamide, le tartrate d'antimoine, l'émétine, le stovarsol, le bi-liposoluble (camphocarbonate de Bi et  $\alpha$ -méthyl- $\beta$ -carboxéthyl-nonoate basique de Bi), le novarsénobenzol Billon, etc. Les résultats, que nous nous dispensons de relater en détail, ont été négatifs.

## LA PSEUDO-TUBERCULOSE DU DINDON

par C. TRUCHE et J. BAUCHE.

Maladie peu connue en France jusqu'à présent, très probablement parce qu'elle a été confondue avec d'autres affections des volailles plus ou moins bien étudiées, elle se rapproche fortement de la *Pseudo-tuberculose des Rongeurs* due, comme on le sait, au *Bac. de Malassez et Vignal*.

Ayant eu l'occasion d'en rencontrer dernièrement quelques cas, nous avons pensé qu'il était utile d'en pousser l'étude plus à fond et de faire connaître ses symptômes, ses lésions et tous ses autres caractères.

### HISTORIQUE.

La pseudo-tuberculose aviaire a d'abord été étudiée en Allemagne par Beck et Huck [1], sous le nom de *Para-choléra aviaire*. Ces auteurs rapprochaient cette maladie des *Septicémies hémorragiques*, eu égard à l'agent qui la détermine; ce dernier, à leur avis, était voisin des *Pasteurella* et susceptible d'infecter non seulement le dindon, mais aussi le pigeon et le canari, ces deux derniers sujets étant moins sensibles que le premier.

Lerche, de Breslau, dans un travail paru en 1926 [2], partageait tout d'abord la manière de voir de Beck et Huck, mais l'année suivante, en 1927 [3] il reconnaissait que l'agent en cause est tout à fait différent de la *Pasteurella* et que c'était plutôt une variété de *Bac. Pseudo-tuberculosis rodentium* aussi bien par ses caractères de culture, ses réactions biologiques que par l'agglutination.

Cette maladie paraît d'ailleurs fréquente en Allemagne où elle a été signalée en de nombreuses régions : Prusse occidentale (Krage et Weisgerber) [4], Silésie (Stephan et Lerche) [5], Hanovre (Erllich) [6], etc...

Il convient d'ailleurs, pour être complet, de rapprocher des



constatations ci-dessus le cas de pseudo-tuberculose de la poule signalé par Nocard en 1885 (7). Il y a lieu de penser également que Lucet l'a certainement rencontrée et a dû la confondre avec d'autres affections des volailles.

En Italie, le Dr Paoli Tottire-Hippolito [8] décrit également en 1916, chez la poule, une affection du même genre qu'il a attribuée, à tort, à l'*Amœba meleagris*, agent présumé de l'*Entéro-hépatite des dindons*.

#### SYMPTÔMES.

Cliniquement, la pseudo-tuberculose du dindon se traduit par de l'amaigrissement progressif, les plumes sont hérissées, les ailes et la queue tombantes, les caroncules et les pende-loques se décolorent, la peau prend une teinte livide. On observe aussi, très souvent, des boiteries assez accusées qui peuvent survenir soit tout au début, soit, au contraire, à la fin de la maladie. Les animaux sont nonchalants, lourds, traînent derrière le troupeau, ne peuvent plus monter et se tenir sur les perchoirs. L'appétit disparaît de plus en plus, les forces également, une diarrhée jaune verdâtre se manifeste et les animaux succombent dans le coma. L'évolution est plus ou moins longue : les sujets paraissent malades pendant trois ou quatre jours au minimum, mais parfois la durée de la maladie peut atteindre jusqu'à huit et dix jours. On n'observe pas de forme chronique, mais il semble que les animaux qui paraissent guéris restent porteurs de germes, car l'épidémie se répète les années suivantes sans que l'on ait introduit de nouveaux sujets dans l'élevage.

La mortalité dans les cas qui nous ont été soumis a oscillé entre 14 à 16 p. 100.

#### ESPÈCES SENSIBLES.

Parmi les oiseaux domestiques ou apprivoisés, les espèces sensibles sont dans l'ordre décroissant suivant : le dindon, surtout quand il est jeune ; le canari et le pigeon. Jusqu'ici l'oie, le canard, la pintade sont considérés comme réfractaires. La sensibilité de la poule est douteuse.

## LÉSIONS.

Les lésions sont marquées, chez le dindon, par une duodénite catarrhale intense, les autres parties de l'intestin étant indemnes. Il y a une dégénérescence plus ou moins prononcée des reins et du foie; celui-ci est hypertrophié et modérément compact. Il est parsemé de foyers miliaires gris blanchâtres qui se montrent, d'après les auteurs allemands, comme des modifications du tissu réticulo-endothélial. Dans certains cas, les petits tubercules sont confluents et forment des masses caséuses plus ou moins volumineuses. Au centre de ces foyers, on constate de la nécrose presque identique à celle observée dans le choléra aviaire.

Sur les coupes histologiques, on n'observe jamais de cellules géantes comme dans le tubercule à B. de Koch. Les reins sont augmentés de volume, de couleur brun-rouge, moyennement compacts, avec des foyers submiliaires plus petits, mais plus nombreux que ceux du foie.

La rate est hypertrophiée également avec une couleur rouge clair où tranchent de multiples petits nodules miliaires.

Il y a cependant des cas où ces lésions sont plus que discrètes et il faut y regarder de très près pour trouver quelques rares foyers miliaires sur les différents organes. Le poumon et le cœur n'offrent rien de particulier et il est très rare d'y trouver des tubercules typiques.

## BACTÉRIOLOGIE.

L'agent causal est, comme nous l'avons dit, un coccobacille semblable à celui décrit par *Malassez* et *Vignal* en France [9], et *Pfeiffer* en Allemagne [10].

Il se présente comme un court bâtonnet, massif, quelquefois légèrement coccique. Sa grosseur varie entre 0,7 à 1,7  $\mu$  de longueur sur 0,5 à 0,7  $\mu$  de largeur. Ses extrémités sont en général arrondies, mais dans les cultures sur gélose apparaissent parfois comme coupées carrément.

Il se colore bien par toutes les couleurs d'aniline usuelles, est Gram-négatif, se teintant d'une façon uniforme sauf dans



les cultures sortant de l'organisme, surtout en bouillon, où l'on trouve des formes bi-polaires. Tantôt il est simple, tantôt en diplocoque et forme en bouillon des chaînettes caractéristiques. C'est pourquoi Olt [11] lui avait donné le nom de « *Streptobacillus rodentium* » et Weisgerber appelait cette maladie « *Infection strepto-bacillaire du dindon* ».

Il est immobile, n'a pas de cils et ne donne pas de spores. On le trouve presque exclusivement dans les nodules ou dans les foyers caséux, très rarement dans le sang et dans la moelle osseuse.

Le produit de l'écrasement sur lame montre, après coloration, quelques germes typiques, mais relativement peu nombreux.

#### VITALITÉ.

Il se conserve de un à trois mois en bouillon et sur gélose ; il garde, au bout de ce temps, les mêmes propriétés fermentatives qu'au départ.

En sérum formolé sous huile, nous l'avons vu repartir après deux ans et demi de conservation à la cave.

#### RÉSISTANCE AUX AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES.

A la chaleur humide, il résiste trente à quarante secondes à 60° ; à 80° il est tué en dix minutes alors qu'il résiste pendant trois à cinq minutes à la même température.

Le sublimé à 1 p. 1.000 le tue en quinze à trente secondes ; l'acide phénique à 5 p. 100 en cinq à dix minutes ; le formol à 4 p. 1.000 en une heure ; le sulfate de fer et le sulfate de cuivre agissent dans le même temps aussi bien à 3 p. 100 qu'à 5 p. 100.

#### CULTURES.

En bouillon, le bacille de la *pseudo-tuberculose* pousse tantôt avec un léger trouble qui disparaît le plus souvent rapidement avec formation d'un léger dépôt, tantôt le liquide reste clair avec de fins agglutinats qui flottent dans la masse et qui, comme précédemment, se déposent en deux ou trois jours. Dans ce dernier cas, l'agitation du tube amène difficilement un léger

trouble, tandis que dans le premier cas les ondes se reforment assez régulièrement.

Lerche croyait pouvoir différencier les souches aviaires de celles des Rongeurs du fait qu'il est classique, avec ces dernières, d'avoir un dépôt et un petit voile plissé au bord du tube, mais il a observé par la suite qu'elles étaient semblables, les unes troubles, les autres absolument claires avec un voile très irrégulier.

Sur gélose, après vingt-quatre heures d'étuve, on voit des petites colonies pointillées, jaunes blanchâtres ou laiteuses, peu apparentes, rarement de la grosseur d'une tête d'épingle avec parfois un aspect gras brillant. Elles sont rondes et fortement granuleuses avec des bords festonnés. La colonie entière, à un fort grossissement, est finement granulée et entourée d'une zone claire sur les bords.

Après quarante-huit heures, les colonies sont plus foncées et la surface est comme desséchée. Après soixante-douze heures, elles apparaissent avec des grains beaucoup plus gros.

Les cultures présentent une curieuse particularité. A côté de nombreuses petites colonies très disséminées, on voit de place en place des colonies plus grosses, plus brillantes qui peuvent faire croire à l'existence de colonies différentes ou à une impureté. Il n'en est rien et il ne s'agit là que des deux sortes de colonies « *smooth* et *rough* », — lisses et rugueuses —, signalées par de nombreux auteurs américains et anglais comme ayant des propriétés différentes. Les petites sont ponctuéées, compactes, sèches, opaques, friables, tandis que les grosses sont en gros grains et, par transparence, faiblement translucides; à la lumière frissante, elles se présentent plus sombres, plus plates et entourées d'une zone claire. Ces deux sortes de colonies se retrouvent d'ailleurs dans la pseudo-tuberculose du lièvre alors qu'on n'en constate que d'une sorte dans la maladie du lapin, du cobaye et du canari.

Sur le milieu de *Drigalski Conradi*, Lerche après vingt-quatre heures observe des colonies fines, peu visibles, bleuâtres, rondes. A un faible grossissement, elles apparaissent granuleuses ou veinées, leur bord est plat, clair, festonné, tandis que le centre est foncé et bleu rougeâtre, mais toutes les colonies ne se ressemblent pas et parfois on en voit de grossièrement granuleuses.



Après quarante-huit heures, l'aspect est plus bleu, plus rond; les colonies s'effacent sur les bords et s'étalent jusqu'à atteindre 3 millimètres de diamètre; elles sont plus sombres et perdent leur transparence. Lerche conclut qu'avec ce milieu il est encore impossible de différencier les races aviaires des autres.

Sur gélose-sang, rien de particulier; il n'y a jamais d'hémolyse.

#### RÉACTIONS BIO-CHIMIQUES.

ACTION SUR LES HYDRATES DE CARBONE. — Le *B. pseudo-tuberculeux aviaire* fait fermenter et virer le dextrose, le maltose, l'arabinose, la mannite, le galactose et le lévulose.

Il n'attaque pas le lactose, le saccharose, la dulcité et la sorbite. Il n'a aucune action sur le petit-lait, le lait et le rouge neutre.

Il fait virer la gélose glycinée tournesolée, ne donne pas d'indol et il n'y a jamais formation de gaz.

Dernièrement, Haupt [12] a étudié une méthode de différenciation des divers germes trouvés chez les oiseaux au moyen de la *salicine*. Cette substance a la propriété d'être fermentée par le bacille de la pseudo-tuberculose, qu'il s'agisse de celle des rongeurs ou de celle des oiseaux. Ce moyen est assez pratique pour permettre de séparer le *B. gallinarum*, par exemple, d'avec le *bacille de Malassez et Vignal*.

L'*adonite* présente aussi cette particularité, mais avec moins de régularité.

AGGLUTINATION. — On prépare facilement un sérum agglutinant ce microbe en traitant soit le lapin, soit le mouton ou la chèvre par des cultures chauffées ou simplement formolées à 4 p. 1.000.

On injecte le mouton ou la chèvre dans la veine et le lapin dans les muscles gastrocnémiens ou le péritoine. On obtient ainsi un sérum agglutinant jusqu'à 1 p. 2.000 les diverses souches.

Le phénomène est toujours plus accusé quand on fait agir le sérum sur la souche homologue, surtout celle qui a servi à le préparer, mais il est toujours suffisamment actif pour agglu-

tinier très nettement, quoique à un taux moindre, les souches hétérologues.

Une difficulté se présente ici du fait que la plupart des races s'agglutinent spontanément, surtout en bouillon. On peut y remédier dans une certaine mesure en faisant plusieurs cultures successives qui lui font perdre cette qualité. Avec les cultures sur gélose en émulsion dans l'eau physiologique, la difficulté est moindre et avec un peu de patience on arrive à avoir une opacité stable.

Le phénomène est toujours assez lent à se produire et il faut au moins vingt-quatre heures de contact pour l'apercevoir, se manifestant surtout par l'éclaircissement du liquide.

Sur les races homologues on obtient des taux d'agglutination allant jusqu'au  $1/2.000$  et même plus, tandis que sur les souches hétérologues les chiffres sont toujours plus bas, quelquefois même seulement jusqu'au  $1/500$ .

**AGGLUTINATION CROISÉE.** — Un sérum obtenu avec une race provenant du cobaye nous a donné sur le germe origine dindon une agglutination très nette, quoique à un taux plus faible que celle observée avec un germe d'origine cobaye. De même, un sérum fait avec un microbe d'origine dindon a donné une agglutination plus faible sur le microbe origine cobaye que sur celui d'origine aviaire. En tout cas, qu'il s'agisse de germes d'origine rongeur ou d'origine aviaire, le pouvoir agglutinant du sérum existe pour les deux, ce qui confirme l'hypothèse de l'unicité des deux germes.

Les réactions d'agglutination sur divers typhiques, paratyphiques, enteritidis Gäertner, typhose et choléra aviaires ont toujours été négatives.

D'après Lerche, la méthode d'absorption des agglutinines de Castellani n'a jamais rien donné de précis.

#### DIAGNOSTIC CLINIQUE.

L'attention étant jusqu'ici peu attirée sur cette maladie, les données nous font quelque peu défaut pour établir avec certitude ce diagnostic.

Les indications qu'ont bien voulu nous fournir plusieurs con-

frères (1) nous permettent cependant de donner quelques précisions intéressantes.

Lorsque dans une basse-cour on voit les dindons seulement atteints à l'exclusion des poules, des oies, des canards et des pintades, on peut soupçonner cette maladie. La boiterie au début, la démarche trainante, l'aspect tombant des ailes et de la queue, la paresse des animaux à suivre le troupeau paraissent symptomatiques quoiqu'elles ne soient pas toujours de valeur absolue.

L'apparition de la diarrhée jaune verdâtre permet souvent ensuite de confirmer les soupçons.

Le diagnostic différentiel avec la typhose est plus délicat mais heureusement cette dernière affection est plus rare que chez la poule.

L'*Entéro-hépatite* est plus difficile à différencier, mais à l'autopsie les lésions du foie ne sont pas les mêmes, se manifestant surtout par des plaques grisâtres plus étendues.

Dans le *Choléra*, l'allure de la maladie est plus rapide, les foyers nécrotiques du foie sont plus fins et plus disséminés. Dans la *Tuberculose vraie* on constate que les foyers sont plus caséux et la coloration rapide d'un frotis de tubercule au Ziehl fixe rapidement le diagnostic.

#### DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Le diagnostic au moyen de la moelle osseuse n'est pas aussi fidèle que dans la typhose. Il est possible, quand même, exceptionnellement il est vrai, puisque les 3 derniers cas qui nous ont été soumis ont été décelés par ce procédé.

C'est dans le pseudo-tubercule qu'il faut rechercher l'agent causal. Il faut prendre soin de bien écraser le nodule entre deux lames stériles ou plonger avec la pipette dans les grosses masses caséuses pour obtenir un matériel qui, ensemencé sur gélose ou en bouillon, donne presque constamment une culture pure après vingt-quatre heures d'étuve.

(1) Nous sommes heureux de remercier ici particulièrement M. Marquet, vétérinaire à Ebreuil et M. le Dr vétérinaire Enault aux Sables-d'Olonne, pour leur empressement à nous fournir des documents de grande valeur, étant donné leur rareté.



Le sang du cœur, la matière cérébrale, la pulpe d'organes sont souvent stériles mais avec des exceptions, comme nous l'avons vu.

S'il s'agit du choléra ou de la typhose, la culture permet d'être fixée rapidement.

Pour écarter toute origine à B. de Koch, il est toujours bon de faire une coloration au Ziehl après étalement sur lame.

Quand on a réussi l'isolement, on peut confirmer le diagnostic au moyen de la séro-agglutination qui, comme nous l'avons dit, est rigoureusement spécifique.

#### ETIOLOGIE ET PATHOGÉNIE.

La maladie est due à un cocco-bacille : *Pseudo-tuberculosis avium* qui, jusqu'à nouvel ordre, doit être considéré comme une variété du *Bac. de Malassez et Vignal*.

La contamination s'opère vraisemblablement par les voies digestives, le germe pénétrant dans l'organisme au niveau de l'intestin d'où il atteint par voie lymphatique les ganglions intestinaux déterminant des adénites hypertrophiantes.

Il gagne ensuite les principaux viscères (foie, rate, reins, poumons) où il ne tarde pas à se manifester sous forme d'abcès miliaires, qui peuvent, en devenant confluent, créer de véritables foyers caséeux.

Il convient de remarquer que les adénites sont toujours moins fréquentes et moins volumineuses que dans la pseudo-tuberculose des rongeurs.

Il ne s'agit donc pas ici de septicémie, mais d'une maladie à allure beaucoup moins aiguë, intéressant d'une façon spéciale le système lymphatique.

Pour les auteurs allemands, la contamination est possible par les cages ou par le séjour dans les parquets infectés.

#### MALADIE EXPÉRIMENTALE.

Par des inoculations répétées dans la veine, Lerche dit avoir réussi à infecter le dindon avec du virus origine dindon alors qu'il échouait avec des souches provenant du cobaye ou du lièvre.

La souris, le cobaye et le lapin sont sensibles, mais surtout par injection intra-péritonéale.

Le rat blanc ne l'est ni par ingestion ni par inoculation.

Le dernier échantillon que nous avons isolé a tué les cobayes dans le péritoine, en quatre et cinq jours avec les mêmes lésions que celles de la maladie naturelle chez ces animaux.

Le canari meurt par ingestion, mais seulement avec des races très virulentes.

Les délais de survie varient avec l'origine et la virulence du matériel injecté.

#### POSITION DANS LA SYSTÉMATIQUE.

Les premiers auteurs ayant signalé cette maladie comme un *para-choléra* avaient commis une erreur qu'ils ont d'ailleurs reconnue plus tard. Peu de chose, en effet, la rapproche du choléra aviaire ; seul, le semis de points nécrotiques sur le foie pouvait faire croire à une similitude des deux germes, agents de ces affections, mais le défaut de septicémie vraie est un caractère suffisant pour écarter cette conception. C'est d'ailleurs une faute, comme en ont convenu les auteurs allemands, que d'attribuer le nom de *Choléra* à la *Pasteurellose* des oiseaux puisqu'il ne s'agit nullement de germes ayant l'apparence de *vibrions*, agents du *choléra humain*, ce qui peut prêter à confusion.

C'est plutôt, on le sait, du *B. pesteux* que ce microbe se rapproche le plus et de nombreux auteurs ont déjà tenté de différencier le *B. pesteux* du *B. de Malassez et Vignal*, malgré leurs nombreux caractères communs.

Zlatgoroff [13], dans un premier travail, donne comme seul moyen différentiel l'action pathogène sur les animaux.

Dans un dernier mémoire [14], il dit que le type *smooth* de pseudo-tuberculose en culture est tellement proche du *B. pesteux* que la différence qui les sépare est seulement quantitative et non qualitative.

Pour Kolle et Otto [15], l'agglutination est spécifique et permet de les séparer.

Pour Skorodumoff et Soumarokoff [16], la distinction est possible par les milieux salés, le *B. pesteux* poussant encore sur un milieu contenant 6 à 10 p. 100 de sel tandis que le *B. de*

la *Pseudo-tuberculose* ne pousse pas avec seulement 6 p. 100.

Le *B. pesteux* pousse plus faiblement que le *B. de Malassez et Vignal*, mais les colonies sont bien semblables.

Il y a deux sortes de colonies dans les deux : *smooth* et *rough*, avec les mêmes aspects. Ces deux auteurs trouvaient que l'agglutination avec un sérum anti-pesteux agglutinant au 1/620 allait jusqu'au 1/320 sur le germe homologue tandis qu'avec la pseudo-tuberculose elle ne se manifestait plus qu'au 1/100, quoique parfois les différences soient peu tranchées.

Dernièrement *Boquet et Dujardin-Beaumetz* [17] ont confirmé que si la virulence de ces deux germes à l'égard du rat diffère, ils possèdent certains antigènes communs décelables *in vivo* et *in vitro*.

Ils ont vérifié ces faits intéressants que le sérum anti-pesteux précipite, quoique inégalement, les filtrats de leurs cultures et que les émulsions stérilisées du *B. de Malassez et Vignal* vaccinent le cobaye contre la peste et la pseudo-tuberculose (*Mac Conkey*).

Le sérum de mouton anti-Malassez agglutine parfois jusqu'au 1/3.000 les germes homologues, mais pas du tout le *B. pesteux*.

Ce sérum précipite au même taux et dans le même temps les filtrats des deux microbes, cependant il ne dévie pas le complément en présence de l'antigène pesteux.

Comme l'a vu *Mac Conkey*, les cobayes immunisés contre la pseudo-tuberculose deviennent également réfractaires à l'infection pesteuse. L'inverse n'est pas vraie puisque des cobayes, vaccinés avec le *B. pesteux* et qui avaient résisté à une inoculation d'épreuve pesteuse, ont pu contracter la pseudo-tuberculose.

Etant donné la proche parenté du *B. pesteux* et du *B. de la pseudo-tuberculose*, nous pensons que le mieux est de considérer ce dernier comme un *Bac. para-pesteux* et d'appeler cette maladie *Para-peste* du dindon.

#### TRAITEMENT.

Jusqu'à présent aucun auteur n'a signalé de traitement vraiment efficace. Cependant, nous devons mentionner que chaque fois que le cas s'est présenté nous avons, après isolement et



confirmation de l'identité du germe, préparé un auto-vaccin chauffé qui a paru donner de fort bons résultats. Il faudra l'épreuve du temps et des recherches nouvelles pour être fixé définitivement à cet égard.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BECK et HUCK. *Centralbl. f. Bakt. Abt. Orig.*, **95**, p. 330.
- [2] LERCHE (de Breslau). *Deutsch. tierärztl. Wochensch.*, n° 22, 1926.
- [3] LERCHE. *Centralbl. f. B. Orig.*, **104**, 1927, p. 493.
- [4] KRAGE et WEISGERBER. *Tierärztl. Rundschau*, n° 20, 1924.
- [5] STEPHAN et LERCHE. *Deutsch. tierärztl. Wochensch.*, n° 22, 1926.
- [6] ERLICH. *Wild und Hund*, n° 8, 1925.
- [7] NOCARD et LECLAINCHE. *Les maladies microbiennes des animaux*, 3<sup>e</sup> édition, 2, p. 161.
- [8] D<sup>r</sup> PAOLI TOTTIRE-HIPPOLITO. *Annali d'Igiene*, n° 6, 30 juin 1926, p. 339.
- [9] MALASSEZ et VIGNAL. *Arch. de physiologie normale et de pathologie*, 1883 et 1884.
- [10] PFELFFER. *Ueber Pseudo-tuberculose bei Nagetieren*, Leipzig 1884.
- [11] OLT et STRÖSE. *Die Wildkrankheiten und ihre Bekämpfung*, Neudam, 1914.
- [12] HAUPT. *Centralbl. f. B. Orig.*, **109**, n° 154, 26 septembre 1928.
- [13] ZLATGOROFF, Sur la morphologie et la biologie du B. pesteux et du B. pseudo-tuberculosis rodentium. *Roussky Wratch*, **104** et *Centralbl. f. B.*, 37.
- [14] ZLATGOROFF et D<sup>r</sup> MOGHILEWSTRAYA, Constitution des cultures du B. de la pseudo-tuberculose. Leur variabilité et leur parenté avec le B. pestis. *Ces Annales*, décembre 1928, p. 1615.
- [15] KOLLE et OTTO. *Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten*, Berlin-Wien, 1, 1919.
- [16] SKORODUMOFF et SOUMAROKOFF, Sur le diagnostic différentiel du B. pseudo-tuberculosis rodentium et le B. pestis à l'aide de milieux contenant diverses doses de sel. *Mikrob. Journ. E.* (Russe), 1926.
- [17] BOQUET et DUJARDIN-BEAUMETZ. *C. R. Soc. de Biologie*, **100**, n° 9, 1929, p. 625.

**RECHERCHES BIOLOGIQUES  
SUR LE MOUSTIQUE DE LA FIÈVRE JAUNE.**

***Aedes argenteus* POIRET**

**FACTEURS D'INERTIE  
ET INFLUENCES RÉACTIVANTES DU DÉVELOPPEMENT.  
LES ŒUFS DURABLES ET LEUR IMPORTANCE  
DANS LE RAJEUNISSEMENT DU CYCLE ÉVOLUTIF**

par E. ROUBAUD.

**AVANT-PROPOS**

Le *Stegomyia* de la fièvre jaune, *Aedes argenteus* (*Aedes aegypti*, *St. fasciata*) est une des espèces culicidiennes qui ont été le mieux et le plus abondamment étudiées, dans le monde entier, au cours de ces dernières années. Il pouvait sembler superflu, après les mémorables travaux de C. Finlay, de Goeldi, de Carroll et Reed, les belles recherches de Marchoux, Simond et Salimbéni, celles de L. O. Howard, les minutieuses et délicates investigations de Bacot, de Scott Macfie, de Young, etc., de reprendre des études d'ordre biologique sur ce moustique. C'est grâce aux connaissances acquises sur les particularités essentielles de son mode de développement, de ses habitudes de ponte, de ses mœurs domestiques que la fièvre jaune peut être désormais tenue en échec dans les deux continents, et les splendides résultats obtenus dans ce sens ne laissent guère de place, semble-t-il, à des espérances meilleures, tant au point de vue des études relatives à l'insecte que des moyens de le détruire.

Cependant si l'on considère le processus initial du développement du *Stegomyia*, les conditions d'éclosion de l'œuf en particulier, on reconnaît que des obscurités très grandes enveloppent encore cette phase essentielle de la vie du moustique, malgré le grand nombre de travaux dont elle a fait l'objet.

Une particularité très spéciale caractérise, comme on le sait, la grande tribu des *Aëdines*, à laquelle appartient le moustique de la fièvre jaune : c'est de donner naissance à des œufs capables de conserver pendant très longtemps, même à sec, leur capacité d'éclosion. Les œufs des *Aëdines* sont déposés le plus souvent hors de l'eau et leur éclosion peut être ainsi retardée pendant de longs mois, pour survenir très rapidement, en quelques instants, lorsque ces œufs sont ensuite placés au contact d'une nappe d'eau. L'étude du conditionnement de l'éclosion a été surtout poussée très loin, dans ce groupe de moustiques, chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune, parce que ce moustique est d'un élevage particulièrement facile. Aussi nombre de travaux ont-ils été orientés, dans ces dernières années, sur les conditions d'éclosion et la résistance aux agents divers des œufs de l'*Aedes argenteus*. Or, il résulte essentiellement de ces recherches qu'un mystère curieux plane sur l'entrée en développement du redoutable insecte, dont les œufs fécondés n'obéissent pas toujours aux règles courantes de l'éclosion.

Parmi les différents investigateurs qui se sont consacrés à ces recherches, il faut accorder une toute première place au regretté Bacot. Cet auteur a multiplié les expériences, sur la Côte Occidentale d'Afrique, afin d'éclairer les incertitudes relatives au développement de cet œuf. Ses très nombreuses recherches, effectuées au cours de sa collaboration à la Yellow Fever Commission en 1916-17, ont fait ressortir que l'éclosion de l'œuf du *Stegomyia*, lorsqu'il est placé dans l'eau, ne s'effectue nullement, comme celle des autres moustiques, d'une façon régulière et rapide. Cette éclosion est au contraire essentiellement incertaine, des plus variables dans le temps de son apparition. Elle paraît même subordonnée à l'intervention d'excitants ou *stimuli* particuliers : l'action brusque du froid, la réhydratation après le dessèchement, la salure de l'eau, certaines substances chimiques, etc. favoriseraient, mais d'une manière incertaine, l'entrée en développement de certains œufs, tandis que d'autres résisteraient complètement à ces influences. On doit également aux recherches de Bacot la notion curieuse que les microorganismes présents dans l'eau, bactéries, levures, exercent une certaine action favorisante sur l'éclosion.



L'interprétation des phénomènes observés par l'auteur anglais est très obscure. Pour Bacot cette singulière tendance de l'œuf du *Stegomyia* à retarder son éclosion serait vraisemblablement héréditaire quoique notablement influencée par les conditions externes agissant après l'incubation. Il fait appel à une certaine « action volontaire des jeunes larves qui provoque ou suspend, suivant les circonstances, leurs mouvements d'éclosion et d'échappement hors de la coque de l'œuf. Quant à l'action favorisante exercée par les microorganismes des eaux, elle serait due aux substances odorantes émanées de ces microorganismes ou des produits de leur activité, qui impressionneraient, à travers la coque de l'œuf, le sens olfactif des jeunes larves.

Les auteurs qui ont suivi : Fielding, Young, Buxton, etc. ont apporté à la question une contribution de faits certainement considérable, mais qui n'en laisse pas moins subsister l'incertitude et l'obscurité essentielles. Il ressort de cet amas important de documents la notion principale d'une irrégularité absolue dans les conditions d'éclosion de l'œuf du *Stegomyia*. Si certains œufs paraissent bien obéir à l'intervention de facteurs favorisants de l'éclosion, soit mécaniques, soit chimiques, ou physiques, d'autres ne le font pas. Ces œufs réfractaires ne « répondent » pas aux excitants par l'éclosion, et demeurent à l'état latent d'une façon quasi-indéfinie. Quant au déterminisme même de l'action stimulante de l'éclosion, exercée par certaines influences extérieures, il demeure essentiellement obscur en raison de la résistance variable que lui opposent les œufs du moustique.

Les résultats obtenus par les auteurs semblent d'ailleurs variables, suivant les régions. Tandis que Fielding (1919) au Queensland, que Bacot (1916) sur la Côte Occidentale d'Afrique, ne reconnaissent pas de différences, au point de vue des aptitudes à l'éclosion, entre les œufs flottant en surface et les œufs submergés, Young, à Manaos, constate que les œufs de la première catégorie n'éclosent que très difficilement par rapport aux seconds. De même, l'influence de l'agitation mécanique de l'eau sur l'entrée en éclosion des œufs n'est pas interprétée de la même manière par les uns et par les autres, et les raisons de ces discordances n'apparaissent pas très bien.

Il m'a semblé qu'il y avait quelque intérêt à reprendre cette étude des conditions d'éclosion du *Stegomyia*, à la lumière des recherches sur les phénomènes d'inactivité spontanée et de réactivation métabolique que j'ai précédemment poursuivies chez de nombreux types d'insectes. Bien que le mécanisme intime de ces phénomènes nous échappe, la constance des facteurs essentiels qui le régissent nous permet de leur formuler une acception générale, dans le cadre de laquelle il m'est apparu que les particularités obscures du développement stégomyien pouvaient être situées.

Il semble à première vue qu'une sorte d'instinct merveilleux, véritablement prophétique, préside à la destinée de l'œuf du *Stegomyia* dans la nature et de la jeune larve qu'il renferme. Cet œuf, placé sur les parois des récipients, peut attendre pendant des mois, en résistant au desséchement, le moment favorable pour libérer sa larve. Même lorsque l'eau vient à l'atteindre, submergé ou flottant, cet œuf peut encore différer son éclosion pendant un temps considérable, jusqu'à ce que des circonstances, apparemment propices, de nutrition, de température, etc. se trouvent réalisées.

A quoi correspondent, biologiquement, ces œufs latents, résistant d'une façon si particulière aux influences d'éclosion? Comment se forment-ils et sous quelles influences?

Quelle est la nature de ce guide mystérieux et sûr qui préside ainsi à l'avènement, en temps opportun, des foyers de développement de l'insecte? Il y a le plus grand intérêt, au point de vue théorique comme au point de vue pratique, à être fixé sur ces points. Les recherches que j'exposerai ci-après résument les principaux résultats auxquels m'ont amené mes investigations personnelles sur ce chapitre encore très insuffisamment éclairé de l'histoire des *Stegomyia*.

Mes études ont porté principalement sur deux souches, d'origine géographique très différente, de l'*Aëdine*. J'ai tenu à expérimenter comparativement sur ces deux souches éloignées, l'une nord-africaine, l'autre malaise, afin de pouvoir éliminer le facteur de race dans l'appréciation des résultats. La souche nord-africaine que je possède m'avait été rapportée de Tunisie par M. J. Colas-Belcour. La souche malaise provenait d'œufs qui me furent très gracieusement expédiés à l'état vivant de

Batavia par M. le D<sup>r</sup> S. L. Brug, directeur du Laboratoire d'Hygiène militaire de Weltewreden, à Java. Je saisis ici l'occasion de lui exprimer, ainsi qu'à M. de Vogel, par l'aimable entremise de qui ces envois d'œufs furent faits, des remerciements d'autant plus vifs qu'il m'a été possible d'obtenir, par la même voie, la souche d'une autre espèce de *Stegomyia*, *St. albopicta* Skuse, dont j'ai incidemment fait également l'étude. Enfin, mon ami M. C. Mathis, Directeur de l'Institut Pasteur de l'Afrique Occidentale française, à Dakar, s'est empressé de me faire parvenir une souche de *Stegomyia* sénégalaise et une, originaire de la Havane, transportée à Dakar par A. W. Sellards, ce qui porte finalement à quatre les souches d'*Aedes argenteus* sur lesquelles j'ai pu expérimenter. Ces différentes races ou espèces de *Stegomyia* paraissent se comporter de manière identique.

Les données que je vais présenter peuvent être, dans une certaine mesure, étendues au groupe entier des Aédines. Je pense également que, d'une façon plus générale, les conclusions qui s'en dégagent éclaireront d'un jour particulier le problème curieux des œufs d'hiver qui se pose non seulement pour les moustiques, et à vrai dire parmi eux exclusivement pour la tribu des Aédines (1), mais encore pour une foule d'organismes : Insectes, Crustacés cladocères (Daphnies), Vers inférieurs (Rotifères), etc. Ces œufs, résistants au froid de l'hiver, apparaissent à point nommé dans le cycle évolutif pour permettre à l'espèce le passage de la saison froide. L'étude des manifestations cycliques de l'asthénobiose chez le *Stegomyia*, dont nous développerons la nature et le caractère au cours de ce travail, fournit à ce problème une base d'interprétation très générale. Elle appuie d'autre part et complète mes recherches précédentes sur les cycles hivernaux des Muscides, des Culicides (Anophélines en particulier) et, dans leur ensemble, sur ces phénomènes curieux de diapause ou de vie latente, plus ou moins liés en apparence à l'hiver, dont l'origine physiologique

(1) Le problème des œufs d'hiver soulevé par quelques auteurs dans ces dernières années pour les Anophélines ne se pose évidemment pas. Il faut entendre, selon nous, par œufs d'hiver des œufs renfermant un embryon ou des larves bloquées dans leur développement par une diapause obligatoire indépendante de la température extérieure (asthénobiose). Jusqu'ici cette propriété n'a été réellement constatée que chez les Aédines.



est jusqu'ici demeurée énigmatique. La très grande généralité, l'importance de ces phénomènes, encore mal compris le plus souvent par les auteurs, parce qu'ils nécessitent une observation extrêmement attentive, et qu'ils se manifestent à des stades évolutifs et sous les aspects les plus variés, malgré leur nature identique, m'ont paru légitimer le développement que j'ai accordé dans ce travail à l'histoire de l'asthénobiose chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune.

## PREMIÈRE PARTIE

### LES PARTICULARITÉS DE PONTE ET D'ÉCLOSION CHEZ LE *STEGOMYIA*

#### I. — La ponte. Conditions du dépôt des œufs en surface ou en dehors de l'eau.

Il est bien connu, depuis Théobald (1903), que les œufs du *Stegomyia* comme ceux des autres espèces d'*Aëdines* peuvent être pondus à sec et conserver longtemps leur vitalité dans ces conditions. Ces œufs sont généralement déposés sur les parois des récipients-gîtes contenant de l'eau, un peu au-dessus de la surface d'affleurement de cette dernière (fig. 1). Lorsque la nappe d'eau est stationnaire, les œufs sont déposés en ligne régulière jalonnant exactement le niveau de l'eau (fig. 2); lorsque la nappe d'eau s'abaisse progressivement par suite de l'évaporation, on trouve les œufs disséminés à différents niveaux correspondant aux affleurements successifs de la nappe liquide. Cette disposition des œufs permet leur immersion facile lorsque l'eau vient affluer dans le récipient-gîte; mais elle garantit aussi leur séjour prolongé à sec, lorsque les conditions de saison ne sont pas propices au renouvellement des petites collections d'eau naturelles.

Il semble que normalement l'insecte préfère la ponte en condition exondée à la ponte directe à la surface de l'eau.

Celle-ci se produit souvent cependant, mais surtout, semble-t-il, dans les conditions de la captivité, lorsqu'on place les femelles



FIG. 1. — Ponte isolée d'*Aedes argenteus* groupée au-dessus de la nappe d'eau.

aptes à pondre dans des récipients où l'espace est restreint, ou dans des bocaux à parois très lisses qui ne permettent que difficilement le stationnement des moustiques. Pour quelles rai-

sons, les deux conditions de ponte étant possibles, le dépôt des œufs à sec est-il le plus fréquent? Correspond-il à une nécessité biologique particulière? C'est ce que nous allons examiner.



FIG. 2. — Pontes multiples de *Stegomyia* (*Aedes argenteus*). Les œufs (œ) de pontes diverses sont disposés en cordon continu, immédiatement au-dessus de la surface de l'eau, formant une ligne noire qui jalonne le niveau du liquide.

Le choix par les femelles du milieu où doit s'effectuer le dépôt des œufs paraît subordonné à des tropismes particuliers ou à des sensations précises. Lorsqu'une femelle de *Stegomyia* a été



maintenue gravis pendant plusieurs jours, en l'absence de toute nappe d'eau qui lui permette d'évacuer ses œufs, elle effectue immédiatement sa ponte à la surface de la première nappe liquide avec laquelle elle est mise en contact. Mais lorsque les femelles sont placées dans des conditions telles qu'elles puissent choisir leur lieu de ponte, elles obéissent à des influences particulières qui règlent ce choix, ainsi que le montrent les observations ci-après.

**INFLUENCE DES DÉCOMPOSITIONS ORGANIQUES MICROBIENNES SUR LE CHOIX DU LIEU DE PONTE.** — J'ai étudié en captivité, dans des cages assez spacieuses, les conditions du dépôt des œufs par les femelles de *Stegomyia*. Des récipients de verre, cristallisoirs de 10 centimètres de diamètre, renfermant tantôt de l'eau pure, tantôt de l'eau souillée par des matières organiques provenant de décomposition ligneuse, ont été placés, pendant plusieurs jours consécutifs, dans les cages d'élevage et les conditions de dépôt des œufs ont été observées dans chaque cas journalier.

Les conditions exactes de l'expérience étaient les suivantes : dans un cristallisoir rempli d'eau pure était placée une petite latte de bois blanc, brut, disposée obliquement en l'appuyant sur les parois de manière à ce que la partie inférieure plonge dans la nappe liquide, tandis que la partie supérieure était constamment exondée, mais plus ou moins humidifiée. Le dispositif étant placé dans la cage d'élevage, à 28° C., l'eau du récipient se chargeait progressivement d'un jour à l'autre de matières organiques, provenant de la décomposition du bois dans sa partie immergée. L'eau nettement souillée était renouvelée et remplacée de temps en temps par de l'eau fraîche. L'expérience poursuivie pendant trois semaines a fourni les résultats suivants :

7 novembre. — Eau claire, non souillée. Tous les œufs (centaine) pondus sur la pièce de bois. Aucun sur l'eau.

8 novembre. — Eau légèrement teintée et souillée par le bois. Tous les œufs pondus à la surface de l'eau. Aucun sur le bois.

9 novembre. — Eau très souillée par le bois, fortement teintée en jaune. Tous les œufs pondus à la surface de l'eau. Aucun sur le bois.

10 novembre. — L'eau souillée est diluée de moitié par de l'eau pure. Un tiers des œufs sont déposés sur l'eau, les deux tiers sur le bois, au contact de la nappe d'eau.

12 novembre. — Eau souillée diluée. Ponte en partie sur le bois, en partie sur la nappe d'eau.

13 novembre. — Eau fortement teintée et souillée. Toutes les pontes sont déposées à la surface de l'eau. Aucune sur le bois.

14 novembre. — Eau claire. Aucune ponte.

15 novembre. — Eau claire. La ponte a lieu dans la matinée uniquement sur le bois; dans la soirée, l'eau a pris une coloration jaune légère, quelques œufs sont déposés à sa surface, mais le plus grand nombre sur le bois.

16 novembre. — Eau claire. Le morceau de bois est recouvert d'un léger enduit de chaux pour protéger sa décomposition. Pas de ponte.

17 novembre. — La ponte a lieu exclusivement sur l'eau. Aucune ponte sur le bois protégé.

18 novembre. — La ponte a lieu exclusivement sur l'eau. Aucune ponte sur le bois protégé.

19 novembre. — L'enduit de chaux est écaillé par places. Ponte partielle sur le bois.

20-21 novembre. — Sur une centaine d'œufs pondus, le quart environ est déposé sur le bois, le reste sur les bords du récipient, quelques-uns sur l'eau.

22 novembre. — Eau claire, et morceau de bois frais, non recouvert de chaux. Aucune ponte.

26 novembre. — Eau claire, et morceau de bois frais, non recouvert de chaux. Aucune ponte.

27 novembre. — Eau légèrement souillée par la décomposition du bois. Ponte en partie sur le bois, en partie sur l'eau.

29 novembre. — Eau très souillée. Pontes en grande abondance sur le bois.

Il convient de faire remarquer qu'à partir du 16 novembre le fragment de bois immergé partiellement a été recouvert d'une couche légère de chaux destinée à le protéger de la

DATES D'EXAMEN	NATURE DE L'EAU	PONTES DÉPOSÉES	
		sur l'eau	sur le bois humide
7 novembre . . . . .	Claire.	0	+++
8 novembre . . . . .	Légèrement souillée.	+++	0
9 novembre . . . . .	Très souillée.	+++	0
10 novembre . . . . .	Partiellement souillée.	+	++
12 novembre . . . . .	Partiellement souillée.	++	++
13 novembre . . . . .	Très souillée.	+++	0
14 novembre . . . . .	Claire.	0	0
15 novembre . . . . .	Claire.		+++
16 novembre . . . . .	Claire.	0	0

décomposition. On notera que dans ces conditions, et jusqu'au 19 novembre, les pontes n'ont plus été faites sur le bois mais sur l'eau, malgré l'absence de matières organiques en solution.

Les pontes sur le bois ne se sont à nouveau manifestées que lorsque l'enduit de chaux, écaillé par places, a permis au liquide de se charger d'éléments de la décomposition microbienne du support ligneux.

La même expérience, reprise dans d'autres conditions, a toujours fourni les mêmes résultats. Le tableau précédent rend immédiatement apparentes les constatations de l'expérience dans sa première partie, du 7 au 17 novembre, dans laquelle le substratum ligneux a été librement offert à la ponte des moustiques, sans préservation artificielle de sa surface par une couche protectrice de chaux. Les signes + indiquent la présence des pontes par ensemble de 50 œufs environ.

L'isolement des parois ligneuses fermentescibles par un revêtement de chaux écarte, comme on l'a vu, la ponte des femelles. Ceci est bien conforme aux constatations antérieures de M. E. Borel relatives à l'action empêchante de la couleur blanche sur la ponte des *Stegomyia* dans les jarres indigènes en Cochinchine (1925). L'auteur a déduit, avec juste raison, de ses observations qu'un revêtement de chaux à la face interne des récipients domestiques pourrait constituer un préservatif efficace contre la ponte de ces moustiques. Il y voyait l'effet d'une action répulsive exercée par la couleur blanche sur les femelles. Nos expériences montrent qu'en réalité c'est la protection de la surface ligneuse contre la décomposition et les fermentations cellulotiques microbiennes qui écarte les femelles pondeuses en empêchant les émanations propres de ces fermentations d'exercer leurs attractions spécifiques sur les femelles. Dans nos expériences les femelles, devenues indifférentes à l'égard de la surface ligneuse protégée, ont déposé leurs œufs sur l'eau parce qu'elles étaient dans l'impossibilité de trouver d'autres gîtes plus favorables, mais il est bien certain, et les observations de M. Borel le montrent, que dans la nature elles n'auraient point choisi l'eau des récipients blanchis à la chaux pour déposer leurs pontes.

Il semble résulter de ces données que les femelles de *Stegomyia* sont guidées, dans le choix de leur lieu de ponte, surtout par un sens olfactif très net. Dans les conditions des expériences elles ont déposé de préférence leurs œufs sur le bois humide, en dehors de l'eau, toutes les fois que celle-ci n'était pas ou n'était



que faiblement chargée de matières organiques. En présence d'une eau fortement souillée par les microorganismes et les produits de la décomposition de la matière ligneuse, il y a eu ponte non plus en condition exondée sur le bois, mais directement sur la nappe d'eau elle-même.

Enfin quand la surface du bois humide a été protégée contre l'action de l'eau par un enduit de chaux, les femelles ont abandonné le substratum ligneux pour déposer leurs œufs à la surface de l'eau ou sur les parois de verre du récipient. La ponte s'est manifestée à nouveau sur la surface ligneuse, en condition exondée, lorsque l'isolement momentané exercé par l'enduit de chaux a cessé d'agir efficacement, par suite de l'imprégnation de la couche de chaux elle-même par les produits de la décomposition du bois.

On remarquera que les femelles ont donc constamment recherché, de préférence à l'eau pure, pour y déposer leurs œufs, soit la surface ligneuse propice à une fermentation ou une décomposition microbienne, soit l'eau souillée elle-même. Les œufs sont donc déposés dans les meilleures conditions possibles pour permettre ultérieurement leur éclosion et le développement des larves. Mais pourquoi le dépôt des œufs si fréquent en dehors de l'eau? Il est possible que cette disposition corresponde aux difficultés qu'éprouvent les femelles à descendre directement sur la surface liquide. Lorsqu'un voile solide, lié à la fermentation, s'étend en surface du liquide, les œufs sont en effet assez fréquemment déposés sur la nappe d'eau. Ce voile constitue une sorte de plancher qui permet aux femelles de s'y poser. Mais est-ce bien la seule raison? Y a-t-il une nécessité physiologique au dépôt des œufs en condition exondée plutôt que sur la surface de l'eau elle-même?

Cette question trouvera sa réponse dans les chapitres ultérieurs. On peut se demander si les œufs qui sont placés au-dessus de la surface du liquide ne correspondent pas à un cycle biologique particulier, rendant nécessaire leur maintien plus ou moins prolongé en condition d'anhydrobiose. Mais les observations ci-dessus montrent que le mode de dépôt des œufs, soit directement sur l'eau, soit en dehors de cet élément, dépend essentiellement de l'état de souillure de l'eau ou de l'existence d'un substratum exondé favorable. Il ne semble

pas qu'une règle liée aux conditions physiologiques de la ponte et à la nature particulière des œufs intervienne dans le choix des femelles. On peut dire seulement que la condition exondée est la plus fréquemment réalisée, dans la vie normale de l'insecte.

## II. — Existence chez le *Stegomyia* de deux types physiologiques d'œufs : œufs actifs et œufs inactifs.

Si l'on étudie de près des pontes de *Stegomyia* déposées directement sur l'eau, on peut reconnaître que l'éclosion des petites larves du moustique n'obéit pas aux règles simples qui président à l'entrée en développement des larves des Culicides habituels. Dans les pontes de *Stegomyia* il peut y avoir des œufs qui entrent en développement en apparence très vite et qui libèrent leur larve au bout de quelques jours, tandis que d'autres demeureront à l'état latent pendant fort longtemps, pendant des mois même avant d'éclore. Les inégalités de développement et la résistance particulière de certains œufs du moustique à l'éclosion ont été, en gros, observées et signalées par bien des auteurs. Mais rien de précis n'a été formulé relativement à la nature de ce curieux phénomène et à ses causes. Un examen rapide permet tout d'abord de reconnaître que les œufs qui échappent à l'éclosion dans le temps normal doivent cette propriété à un état torpide particulier de la larve qu'ils renferment, et non à un retard ou à un arrêt dans l'évolution embryonnaire.

Pour bien se rendre compte des particularités physiologiques curieuses qui sont propres à l'*Aedes* de la fièvre jaune, si on le compare aux moustiques habituels à développement uniformément rapide, il est nécessaire d'étudier la destinée d'éclosion de ses œufs, dans une eau *pure*, exempte de matières organiques et de germes microscopiques abondants. L'eau *pure* servira de réactif pour la distinction de deux types physiologiques essentiels d'œufs, chez ce moustique. Si nous déposons à l'étuve, dans de l'eau distillée, ou de l'eau de robinet bien claire, des pontes de *Stegomyia* fraîchement issues des femelles, nous pourrons constater que certains œufs éclosent spontanément

dans les délais habituels de deux ou trois jours, qui correspondent au temps d'incubation ordinaire des œufs de *Culicidés* à 25-28° C., tandis que les autres n'éclosent pas. Ces œufs qui échappent en apparence à l'entrée en développement peuvent être pris (et l'ont été fréquemment) pour des œufs non fécondés ou non viables. Mais si l'on ouvre délicatement ces œufs qui n'ont pas répondu à l'éclosion dans les délais habituels de deux à trois jours, on constate qu'ils renferment en réalité une larve primaire vivante, normalement constituée et prête à éclore, qui peut se déplacer dans l'eau lorsqu'on la débarrasse de la coque de son œuf. Il ne s'agit donc point d'œufs stériles et inaptes au développement, mais d'œufs renfermant une larve en *diapause* ou à l'état latent qui, pour des raisons à préciser, n'éclosent pas spontanément dans les délais habituels ; cette larve peut se conserver ainsi fort longtemps : elle n'apparaîtra dans le milieu liquide environnant que lorsque des influences particulières auront agi sur elle. Cette larve au lieu d'être douée de mouvements actifs est au contraire en état d'inertie spontanée (asthénobiose).

L'*Aedes* de la fièvre jaune peut donc produire des *œufs actifs*, qui éclosent à la manière ordinaire, en deux ou trois jours, et des œufs *inactifs* ou *durables* dont l'éclosion est différée pendant ce temps plus ou moins long, pour des raisons à connaître.

PONTES ACTIVES ET PONTES INACTIVES. — Si l'on étudie individuellement les pontes de femelles isolées de *Stegomyia*, on pourra compléter ces premières indications. Il sera possible en effet de constater que certaines femelles ne donnent naissance qu'à des œufs durables ou à des pontes dans lesquelles ces œufs actifs prédominent. Parfois tous les œufs éclosent dans le délai de deux ou trois jours, mais le plus souvent il y a dans une même ponte, provenant de la même femelle, une certaine proportion d'œufs qui éclosent rapidement, tandis que le reste est constitué, en proportion variable, par des œufs durables. En tenant compte de la proportion relative et de la prédominance de l'un ou l'autre type d'œufs dans une même ponte il sera permis dès lors de distinguer chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune :



1° Des pontes *actives*, renfermant soit entièrement, soit en prédominance, des œufs aptes à une éclosion rapide spontanée en eau pure ;

2° Des pontes *inactives* renfermant soit entièrement, soit en prédominance, des œufs *durables*, inaptes à une éclosion spontanée rapide en eau pure.

EXEMPLES : Femelles  $a^1$  et  $a^2$  de l'expérience A ont donné des pontes *actives* renfermant l'une 60 p. 100, l'autre 70 p. 100 d'œufs à développement rapide.

La femelle  $a^3$  a donné une ponte *inactive* renfermant la totalité sauf un d'œufs inactifs.

Ces distinctions, dont l'importance apparaîtra plus loin, ne peuvent naturellement être faites que sur des pontes bien individualisées de femelles isolées. Pour étudier les caractères de la ponte, il est nécessaire d'isoler les femelles fécondées dans de petits récipients de ponte renfermant une petite nappe d'eau. J'opère habituellement dans des fioles de verre d'une contenance de 50 à 60 cent. cubes, remplies au tiers d'eau de robinet ou d'eau distillée. La femelle est introduite dans le récipient autant que possible lorsqu'elle est prête à la ponte, ce qu'on reconnaît facilement à la coloration blanchâtre de la face inférieure de l'abdomen. On doit éviter d'isoler des femelles qui n'ont point encore entièrement digéré le sang absorbé, parce que les déjections de ces moustiques pourraient souiller le liquide et fausser les résultats. C'est pour n'avoir pas tenu compte de cette nécessité d'étudier les pontes individuelles des femelles, dans les conditions indiquées, que la compréhension des curieuses particularités d'éclosion de notre *Aëdine* a été jusqu'ici entachée des plus grandes obscurités. Il y a en effet, peut-on dire, autant de modes différents de réaction d'éclosion que de pontes distinctes.

Dans les petits récipients les femelles déposent fréquemment leurs œufs à la surface du liquide. On peut constater qu'en ce qui concerne la rapidité relative de l'éclosion il n'y a aucune différence entre les œufs qui ont été artificiellement immergés dans le liquide et ceux qui sont maintenus en surface, à la condition toutefois que l'immersion ne succède pas brusquement à une période prolongée de latence des œufs à la partie supérieure de la couche d'eau.

Par leurs caractères morphologiques, les œufs actifs ne peuvent être distingués des œufs inactifs. La structure et l'épaisseur de la coque sont les mêmes dans les deux cas, et c'est seulement dans leurs caractères physiologiques d'éclosion que ces deux types d'œufs peuvent être distingués. Les œufs durables, qui correspondent aux œufs d'hiver des autres espèces d'Aédines de régions froides, ne présentent dans leur structure rien de particulier. Toutes les différences résident dans le fait curieux et fondamental que la larve des œufs durables résiste à l'éclosion spontanée, alors que celle-ci est permise à la larve de l'œuf actif.

DIFFÉRENCIATION DES DEUX TYPES D'ŒUFS PAR L'EXCITATION MÉCANIQUE. ECLOSION RAPIDE, AU CHOC, DES ŒUFS ACTIFS ET SUBACTIFS. — Si, au moment où dans l'eau pure nous commençons à apercevoir une ou deux petites larves spontanément délivrées de la coque de l'œuf actif, au troisième jour à 23° C., nous agissons légèrement le liquide renfermant l'ensemble de la ponte, on assistera le plus souvent à une éclosion immédiate et massive des œufs actifs non éclos encore présents dans cette ponte. De toutes parts, nous verrons l'opercule des œufs actifs se soulever et la tête des petites larves apparaître; puis, en quelques secousses rapides, elles s'échapperont dans le liquide. Lorsque les œufs sont fixés sur les parois des récipients, en dehors mais au voisinage de la nappe d'eau, si celle-ci, par l'agitation de la surface, vient à heurter la coque des œufs actifs, les larves s'échappent immédiatement de l'œuf exondé, puis, guidées par un hygro-tropisme particulier, descendant verticalement, gagnent l'eau par leurs propres moyens. L'agitation mécanique détermine ainsi de véritables *épidémies d'éclosion* dans une masse d'œufs de mêmes propriétés actives.

Les œufs actifs, en imminence d'éclosion, répondent donc par une éclosion immédiate à une excitation mécanique faible. Il suffit d'agiter légèrement le liquide ambiant pour provoquer l'apparition des larves instantanément. Cette éclosion rapide immédiate sera également obtenue sous l'influence de contacts mécaniques brusques, par exemple, si l'on ajoute de l'eau dans le récipient, si l'on fait passer les œufs dans un liquide différent. J'ai obtenu des éclosions massives de pontes actives en portant

des œufs dans de l'eau distillée, de l'eau physiologique, des solutions d'eau oxygénée, de permanganate de potasse, etc. Toutes ces éclosions brusques ne sont pas liées à une excitation de nature chimique, mais simplement aux influences mécaniques : aux actions de choc ou de contact s'exerçant sur la paroi de l'œuf. Les phénomènes sont ici comparables à ceux qui président à l'éclosion des larves primaires de *Gastrophiles* qui répondent brusquement par l'éclosion à l'intervention d'un choc brusque sur la paroi de l'œuf. Ils sont, dans une certaine mesure également, comparables à ceux qui provoquent l'éclosion des embryons ciliés de *Schistosomes bilharziens*, dans l'eau pure.

Lorsque l'agitation de l'eau a provoqué ou hâté l'éclosion des œufs actifs renfermés dans une ponte, il reste le plus souvent dans cette dernière un certain nombre d'œufs qui demeurent à l'état latent, sans éclore sous l'influence des excitations mécaniques. Cependant il peut se produire que vers les quatrième, cinquième, sixième jours les excitations mécaniques et l'agitation du liquide continuent à provoquer un plus ou moins grand nombre d'éclosions dans la masse. Ces œufs, qui ont dépassé légèrement les délais normaux d'éclosion pour répondre un peu plus tardivement à une stimulation mécanique, constituent des œufs *subactifs*, dont l'aptitude à l'éclosion rapide spontanée n'est pas aussi marquée que chez les œufs vraiment actifs ; mais ils n'ont point non plus le caractère d'inertie prolongée des œufs durables. Parfois, les actions de choc déclenchent l'éclosion des œufs subactifs dès le troisième jour de la ponte, alors que par eux-mêmes ils seraient inaptes à l'éclosion.

Cette constatation montre que, si les distinctions entre *œufs actifs* et *œufs durables* sont commodées au point de vue de la description des phénomènes, il n'y a en réalité aucune démarcation tranchée entre eux. Tous les passages existent entre les deux types, qui sont différenciés surtout par les caractères extrêmes : les œufs durables sont inaptes à l'éclosion spontanée ; ils résistent (temporairement au moins) aux excitations mécaniques, tandis que les œufs actifs éclosent spontanément, dans les trois premiers jours ou très rapidement sous l'action de ces excitants.



La sensibilité des œufs actifs et subactifs aux stimulants d'ordre mécanique fait que ces œufs éclosent souvent très vite au contact des mouvements des larves précédemment écloses. Il suffit que quelques larves se soient libérées dans le liquide pour déclencher parfois autour d'elles, par l'effet de leur agitation et de leurs déplacements, une sorte d'éclosion épidémique des œufs qui les entourent.

Les actions de choc permettent donc de différencier dans une ponte récente de *Stegomyia* les œufs aptes à une éclosion rapide des œufs inaptes à l'éclosion, dans les premiers jours au moins de leur dépôt. Comme nous le verrons plus loin, en effet, les œufs durables qui passent à l'état de repos, et peuvent être conservés ainsi pendant des semaines et même des mois, ne sont pas cependant indifférents par essence aux excitations d'ordre mécanique. Mais, dans les premiers jours, ces œufs résistent complètement à ces influences : le brassage de l'eau, le secouage, les agitations de surface ne réveillent pas l'éclosion d'un grand nombre d'œufs récemment pondus qui cependant ne sont point morts, car la dissection permettra d'y déceler des larves primaires bien conformées et vivantes.

L'absence de distinction rationnelle faite jusqu'ici par les auteurs entre les propriétés physiologiques des œufs actifs ou subactifs et des œufs durables, d'après les tests ou réactifs biologiques que nous venons d'indiquer, explique les résultats contradictoires obtenus par les différents chercheurs qui ont étudié l'effet des excitations mécaniques sur les œufs de l'*Aëdine*. Tandis que Bacot (1916) n'a pu constater que l'agitation de l'eau influe favorablement sur le développement des œufs de *Stegomyia*, Mitchell antérieurement (1907), aux Etats-Unis, relate que Dupré a obtenu des résultats positifs dans ce sens. Dans les expériences de Young (1922), faites au Brésil, l'agitation avec ou non présence de nourriture dans l'eau apparaît exercer une influence certaine sur l'entrée de l'œuf en développement. Au contraire, cette action apparaît très douteuse dans les expériences récentes effectuées, en Polynésie, par Buxton et Hopkins.

Cette absence de concordance dans les résultats des auteurs apparaîtra constamment dans l'étude des différentes influences réactivantes des œufs latents de *Stegomyia*. Elle tient à ce que les auteurs ont opéré avec des œufs présentant un potentiel

d'activité évolutive différent, qui n'a pas été différencié dès le début des expériences. En ce qui concerne le rôle de l'agitation ou des autres facteurs mécaniques, nous le résumerons en disant que : certains œufs, chez le *Stegomyia*, peuvent répondre par une éclosion rapide à l'action de ces facteurs s'exerçant *dans la première semaine* de leur dépôt. D'autres œufs (œufs durables) nécessiteront un temps plus ou moins long, parfois très long, pour réagir de la même manière à l'action de ces excitants. Nous donnerons plus loin des exemples de réponse plus ou moins tardive des œufs durables à l'agitation du liquide environnant.

### III. — Les œufs durables et les excitants d'éclosion.

Les œufs fécondés, qui, dans l'eau pure, n'éclosent pas spontanément dans les trois premiers jours ou qui ne réagissent pas à l'agitation mécanique au bout de quatre ou cinq jours sont des œufs durables. Selon toute apparence ces œufs pourront être conservés très longtemps en état de viabilité sans manifester leur capacité d'éclosion.

La propriété la plus caractéristique de ces œufs, ou tout au moins celle qui a le plus frappé les auteurs, c'est leur grande durée de conservation possible à l'état sec. Bacot a pu conserver plus d'une année à sec des œufs expédiés en Angleterre. Après treize mois, une éclosion put encore être obtenue sur un lot d'un millier d'œufs. C'est là d'ailleurs une limite de durée exceptionnelle et que la plupart des œufs durables ne paraissent pas pouvoir tolérer.

D'après mes observations personnelles, une durée de conservation de six à huit mois est très courante pour des œufs maintenus à la température de la chambre à Paris. Mais la durée de la conservation des œufs durables, ou plutôt des larves en asthénobiose qu'ils renferment, dépend beaucoup de l'état hygrométrique de l'air, de la chaleur et de la nature même du substratum sur lequel les œufs ont été déposés. Sur papier, sur bois sec ou sur verre quand l'air est très sec et chaud les œufs durables ne se conservent pas très longtemps. Au cours de l'été 1928, dans une pièce très chaude et sèche de mon labora-

toire, sur plusieurs milliers d'œufs conservés à sec, c'est à peine si quelques douzaines seulement purent être amenés à l'éclosion au bout de trois à quatre mois. Des œufs maintenus à sec en flacons de verre bouchés, échappant davantage aux influences desséchantes, donnèrent au bout du même temps une proportion d'éclosion supérieure. Lorsque les larves encloses dans l'enveloppe de l'œuf n'ont pu résister aux influences desséchantes, la paroi de l'œuf qui les renferme apparaît déprimée et plus ou moins aplatie. Ces œufs sont morts et ne peuvent plus être réactivés.

Les œufs durables placés à la surface de l'eau ou immergés dans le liquide peuvent également conserver leur vitalité sans éclore pendant un temps très prolongé. Je n'ai pas constaté, à la différence de certains auteurs, que les œufs immergés en profondeur dans l'eau se conservent moins bien et manifestent leur vitalité moins longtemps que les œufs flottant en surface. Des œufs placés dans les deux conditions, les uns au fond d'un récipient rempli d'eau, les autres flottant à la surface, ont pu être conservés inaltérés, pendant près de dix mois, à la température du laboratoire, du 25 janvier 1926 au 16 novembre 1927. A cette date les œufs ont été soumis à des influences de réactivation qui ont provoqué l'éclosion des larves. Il y a tout lieu de penser que ces dernières auraient pu conserver leur viabilité dans les œufs pendant au moins un an. Il convient toutefois d'ajouter que la seule immersion brusque d'œufs qui ont été déposés en surface peut provoquer l'éclosion d'un plus ou moins grand nombre d'entre eux.

Les œufs durables peuvent donc demeurer dans l'eau pure, à l'état latent sans éclore, pendant un temps considérable. Comme les œufs à sec, ils écloreont lorsque des influences favorables se feront sentir sur eux. Quelles sont ces influences ?

#### LES STIMULANTS DE L'ÉCLOSION. LEUR MODE D'ACTION.

Les auteurs, depuis Bacot, ont reconnu la nécessité d'intervention de *stimulus* particuliers pour amener à l'éclosion les œufs résistants de *Stegomyia*. Le problème de l'intervention de ces stimulants de l'éclosion est jusqu'ici demeuré entier et la nature biologique de leur action inexpliquée.



Nous tenterons plus loin d'en donner une interprétation, après avoir éclairé la nature du phénomène d'inertie de l'œuf chez le *Stegomyia* et les *Aédines* en général. Je passerai simplement en revue, pour le présent, les principaux types d'influences stimulantes aptes à favoriser l'éclosion des œufs latents, et je donnerai pour préciser quelques indications expérimentales sur leur mode d'action, basées sur mes observations personnelles. Il serait fastidieux de donner *in extenso* le relevé de toutes les expériences que j'ai réalisées au cours de ces recherches ; je me bornerai à quelques citations indispensables.

Les excitants ou stimulants de l'éclosion chez les *Aédines* peuvent être répartis en trois groupes principaux : les excitants physiques et mécaniques, les excitants chimiques et les excitants biologiques liés à l'action des microbes et des ferments solubles. J'envisagerai successivement chacun de ces groupes de stimulants ou d'influences stimulantes.

I. — EXCITANTS PHYSIQUES ET MÉCANIQUES. — On peut ranger dans ce groupe les actions thermiques de froid ou de chaud, la réhydratation après l'anhydrobiose, les actions osmotiques, de pressions, etc.

Ces actions ont été étudiées par beaucoup d'auteurs. Elles n'ont généralement sur les œufs durables qu'une influence imparfaite. Bacot par exemple a constaté que le refroidissement brusque exerce une influence stimulante sur l'éclosion, alors qu'une élévation thermique de 27 à 35° C. a peu d'action. La réhydratation d'œufs conservés à sec lui a donné des résultats d'éclosion, variables suivant la durée de conservation des œufs. Pour des œufs conservés à sec pendant une durée de un à sept jours, les résultats varièrent de 81 à 54 p. 100.

Dans mes expériences, je n'ai obtenu que des résultats très incomplets de réactivation, en soumettant des œufs brusquement au froid, puis à la chaleur ou à la réhydratation, après un dessèchement d'une faible durée.

Par contre, les actions prolongées des facteurs d'*athermobiose* ou d'*anhydrobiose* se sont montrées, comme il est de règle, beaucoup plus aptes à rétablir l'activité d'éclosion. Après une *anhydrobiose* ou séjour à sec des œufs, de brève durée, la pro-

portion des éclosions que suscite la réhydratation dans l'eau pure est infime d'ordinaire. Cette proportion augmente avec la durée.

Ainsi, 10 œufs pondus le 7 novembre sont soumis à l'anhydrobiose pendant huit jours. Réhydratés dans l'eau de robinet le 16, aucune éclosion. Un lot d'une soixantaine d'œufs pondus le 30 septembre est placé en condition d'anhydrobiose le 3 octobre. Après *dix-huit jours* d'anhydrobiose, 7 de ces œufs sont immergés en eau de robinet. Aucune éclosion.

Une ponte du 22 septembre est conservée en condition d'anhydrobiose *pendant vingt-trois jours*, à la température du laboratoire, elle est immergée dans l'eau de robinet le 15 octobre. On note 2 éclosions le 18 octobre.

Une ponte de 30 œufs est conservée en condition d'anhydrobiose pendant *un mois*, du 3 octobre au 3 novembre. Ces œufs sont ensuite immergés dans l'eau de robinet. On note 8 éclosions le 10 novembre.

Une ponte de 20 œufs est conservée à sec à partir du 28 janvier à la température du laboratoire pendant *dix mois*. Le 12 novembre, les œufs sont immergés dans l'eau de robinet. Quelques éclosions se produisent déjà au bout de quelques minutes ; du 12 au 16 novembre, 9 larves écloses, soit 45 p. 100.

Ces expériences montrent que la réhydratation brusque agissant comme stimulant d'éclosion sur les œufs de *Stegomyia* n'exerce d'effets sensibles que si la durée de conservation des œufs à sec a été assez prolongée. Nous voyons donc ici une nouvelle confirmation du rôle réactivant réel de l'anhydrobiose dont nous avons donné différents exemples dans des travaux divers.

C'est ce facteur qui prépare les œufs à la reprise évolutive lorsque l'hydratation se fera sentir et son action *prolongée*, associée ou non à la détente thermique de l'athermobiose, doit être considérée comme un des éléments naturels importants de la réactivation.

Aussi voyons-nous, dans la nature, la pullulation des *Stegomyia* survenir immédiatement après une longue période de saison sèche, dès le début de l'apparition des pluies. La saison sèche permet la réactivation d'un grand nombre des œufs qui peuplent les parois des gîtes et, dès le retour de l'humidité, les larves réactivées peuvent alors entrer en développement actif. Le facteur d'anhydrobiose *prolongée* est donc important à considérer dans la biologie du Moustique.

Mais la proportion des œufs appelés à la réactivation après avoir subi l'anhydrobiose de longue durée, si elle est plus ou moins élevée, apparaît rarement complète pour tous les œufs

qui ont subi cette influence. Il demeure toujours une proportion plus ou moins élevée d'œufs qui échappent à la réactivation par l'eau après une anhydrobiose prolongée. Les expériences de Bacot, celles de Fielding et d'autres auteurs confirment ce résultat comme les miennes. Les conditions suivant lesquelles s'est effectué le desséchement influent également d'une façon considérable sur la proportion des résultats d'éclosion par réhydratation consécutive. Lorsque le desséchement prolongé est poussé trop loin, surtout à la chaleur, les œufs ne sont plus aptes à l'éclosion soit par suite de la mort des larves, soit parce que celles-ci, au lieu de voir leur activité reprendre, voient au contraire leur torpeur augmenter. Fielding a noté que les œufs ne résistent pas à un desséchement de vingt-six jours par le chlorure de calcium. J'ai indiqué plus haut qu'après l'été chaud et particulièrement sec de 1928 le plus grand nombre des œufs que je conservais au laboratoire dans leurs récipients de ponte à sec n'ont pu être amenés à l'éclosion.

De même que l'anhydrobiose prolongée, l'athermobiose ou séjour de longue durée à température peu élevée paraît provoquer la reprise de l'activité évolutive chez les œufs. Des œufs qui étaient insensibles à l'agitation ou au choc le deviennent et libèrent leurs larves après avoir été conservés pendant des mois à une température inférieure à 18° C.

Ainsi, un lot de 12 œufs pondus le 25 février est conservé en condition immergée dans l'eau de robinet à la température du laboratoire. Ces œufs soumis au secouage dans les premiers jours de l'expérience n'ont donné aucune éclosion. Après environ dix mois de latence dans l'eau, ces œufs sont à nouveau soumis à l'excitation mécanique par agitation de la nappe liquide qui les renferme. En quelques minutes, une larve se libère de la coque de l'œuf; moins de vingt-quatre heures plus tard, 8 larves sont trouvées nageant dans le liquide.

Dans les 4 œufs restants, les larves continuent à résister à l'éclosion et ne peuvent être amenées à la vie active qu'à la suite de l'intervention d'un stimulant chimique (hypochlorite).

Cette expérience montre que le desséchement de l'œuf n'est pas indispensable à la réactivation. L'anhydrobiose prolongée peut être remplacée par un long séjour à température peu élevée en milieu humide. L'équivalence physiologique des deux facteurs : anhydrobiose et athermobiose, sur laquelle j'ai maintes fois insisté pour la réactivation des organismes en asthénobiose,

se trouve une fois de plus vérifiée. (Voir E. Roubaud, 1922, 1924, 1928, etc.)

Nous avons dit plus haut que les excitations mécaniques : agitation, secouage, chocs, ou leurs variantes comme les changements de milieu, le passage dans des liquides de concentrations différentes laissent généralement indemnes les œufs durables, tandis qu'ils provoquent l'éclosion des œufs actifs. Il faut préciser que ces excitants agissent également sur les œufs subactifs et aussi, comme l'expérience ci-dessus le démontre, sur les œufs durables qui ont été réactivés par l'action prolongée des facteurs d'athermobiose ou d'anhydrobiose. L'agitation mécanique de l'eau constitue en particulier un test commode pour apprécier l'état de réactivation relative des œufs durables, comme l'expérience ci-dessus le démontre.

II. — EXCITANTS CHIMIQUES. — Nombreuses sont les substances expérimentées par les auteurs pour stimuler l'éclosion des œufs de l'Aëdine. Les « réponses » d'éclosion ont été observées avec un grand nombre de solutions et de corps de nature chimique différente, mais ces réponses sont aussi essentiellement variables. Buxton et Hopkins qui ont publié récemment leurs recherches importantes sur la question, effectuées en Polynésie, remarquent que malgré la diversité des substances employées : acide tannique, citrique, formaldéhyde, maltose, mannite, saccharose, glucose, glycérine, alcools, etc., les résultats obtenus sont à peu près comparables. Toutes ces substances diverses facilitent dans une certaine mesure l'éclosion des œufs, même en solutions faibles à 1 p. 100 qui ne paraissent pas susceptibles d'exercer une action osmotique ou d'ordre physique.

Fielding a utilisé avec succès le lysol, les solutions savonneuses à 2,5 p. 100, mais ses expériences ne sont pas à l'abri de la critique ; l'éclosion a pu survenir sous l'influence d'excitations mécaniques simples, les expériences étant faites par immersion brusque des œufs expérimentés dans les solutions.

Si l'on se reporte aux résultats publiés par les auteurs on voit que les proportions de résultats d'éclosion obtenus par les stimulants chimiques sont rarement très élevées ; elles sont presque toujours notablement inférieures à celles que l'on



obtient par l'emploi des eaux souillées, comme nous le verrons plus loin.

Je ne reviendrai pas ici sur le détail de mes expériences personnelles sur les différents excitants chimiques. Je me bornerai à signaler les résultats obtenus avec plusieurs substances qui ne paraissent pas avoir été expérimentées par les auteurs : l'éther sulfurique et différents oxydants comme le permanganate de potasse, l'eau oxygénée et surtout l'hypochlorite de soude qui peut être considéré à l'heure actuelle comme le meilleur stimulant chimique d'éclosion pour les œufs de *Stegomyia*.

Comme l'ont fait observer Buxton et Hopkins, l'étude de l'action des stimulants chimiques doit être accompagnée de témoins, rigoureusement placés dans les conditions des œufs expérimentés. Il faut éviter toute intervention possible de stimulants secondaires, refroidissement brusque, choc, agitation, etc., qui peuvent, au moment de l'expérience, intervenir pour en fausser les résultats. D'après ce que nous avons dit, il convient également de tenir compte, dans ce sens, des actions réactivantes de longue durée qui ont pu exercer leur action sur les œufs, et surtout de faire usage d'œufs vraiment inactifs, éprouvés par un séjour de plus d'une semaine dans l'eau ou à sec. Je ne donnerai ici que quelques-unes des expériences effectuées, choisies parmi les plus démonstratives.

*Action de l'éther.* — I. 30 œufs pondus le 14 novembre et conservés à sec jusqu'au 11 décembre sont immergés à cette date dans l'éther sulfurique pendant une minute. Ils sont ensuite retirés puis déposés dans un récipient renfermant de l'eau de robinet.

Résultat : 3 larves éclosent en moins d'une demi-heure, une dizaine dans les vingt-quatre heures ; la totalité parviennent à l'éclosion dans le courant du deuxième jour. Les œufs témoins placés dans l'eau de robinet n'éclosent pas.

Dans cette expérience, l'action stimulante de l'éther peut avoir été masquée, au moins pour les œufs les premiers éclos, par l'excitation mécanique produite par le passage brusque des œufs dans l'éther, puis dans l'eau.

II. 10 œufs pondus le 7 novembre ont été immergés dans l'eau de robinet après huit jours de conservation à sec. Aucune éclosion ne s'est produite. Le 11 décembre on ajoute à l'eau de robinet de l'eau d'infusion : aucune éclosion ne survient encore.

Le 20 décembre, 3 gouttes d'éther sulfurique pur sont versées à la surface du liquide dans lequel les œufs sont immergés en profondeur : on constate, le 21, l'éclosion de 3 des œufs. Les autres restent à l'état latent.

Une autre expérience a été conduite de façon tout à fait analogue avec 10 œufs du 7 novembre; une seule goutte d'éther ajoutée à la culture le 20 décembre n'a provoqué aucune éclosion. Un grand nombre d'expériences ont fait ressortir que l'action de l'éther comme stimulant d'éclosion est imparfaite et incertaine.

J'ai expérimenté l'action de différents oxydants sur les œufs durables de *Stegomyia*. Ils ont tous permis de constater une réponse d'éclosion positive mais dont l'intensité est bien différente suivant les corps utilisés, et suivant aussi leur degré de concentration.

Tout d'abord, j'indiquerai que les œufs ne paraissent pas influencés par l'oxygène naissant, même en présence de catalyseurs minéraux. J'ai soumis un lot d'une cinquantaine d'œufs immergés dans de l'eau de robinet en présence de bioxyde de manganèse, à un courant d'oxygène barbotant dans la masse d'eau d'une façon continue pendant plusieurs jours. Aucune éclosion n'a été constatée à la fin de l'opération. Par contre, l'action directe sur les œufs de certaines solutions oxydantes donne des résultats d'éclosion plus ou moins marqués.

*Action de l'eau oxygénée.* — Ce corps exerce une action immédiate sur les œufs actifs en imminence d'éclosion au troisième jour. On obtient, en plaçant des pontes du troisième jour dans une solution d'eau oxygénée, une réponse d'éclosion massive et quasi-instantanée dans certains cas.

Sur les œufs durables, l'action de ce corps est beaucoup moins appréciable.

7 œufs pondus trois semaines auparavant sont placés le 7 décembre en présence d'une solution commerciale purifiée à 12 volumes, à l'étuve à 28° C. Au bout de deux heures, 1 éclosion est observée; 3 autres larves apparaissent dans les vingt-quatre heures. Le reste des œufs meurent sans parvenir à l'éclosion. Témoins inchangés.

*Action du permanganate de potasse.* — Ce corps paraît exercer également une certaine action stimulante, assez compa-

nable à celle de l'eau oxygénée, sur les œufs de *Stegomyia*.

Sur des œufs actifs, au troisième jour de la ponte à 28° C., les solutions de permanganate provoquent, comme celles de l'eau oxygénée, des éclosions massives. Sur les œufs résistants le pouvoir stimulant de ces solutions apparaît beaucoup plus irrégulier et lointain.

a) 10 œufs ayant résisté à l'éclosion depuis deux mois dans l'eau de robinet sont placés à 28° C. dans une solution à 1 p. 5.000 de permanganate de potasse, le 30 mai. Pendant les premiers jours, on ne constate aucun effet d'éclosion. Le 18 juin, soit le dix-huitième jour de l'expérience, on constate que toutes les larves sont parvenues à l'éclosion; elles sont trouvées mortes dans la solution.

b) Une série de 9 tubes à essais renfermant des solutions fraîches de permanganate de concentrations diverses sont déposés le 18 février à l'étuve à 28° C. Quand les solutions ont pris le degré de température voulu, on dépose dans chaque tube un certain nombre d'œufs provenant d'une ponte latente depuis le début de février. Les tubes renferment respectivement :

Solution à 1 p. 1.000 . . . . .	6 œufs.
Solution à 1 p. 2.000 . . . . .	4 œufs.
Solution à 1 p. 4.000 . . . . .	3 œufs.
Solution à 1 p. 5.000 . . . . .	4 œufs.
Solution à 1 p. 6.000 . . . . .	4 œufs.
Solution à 1 p. 8.000 . . . . .	4 œufs.
Solution à 1 p. 10.000 . . . . .	4 œufs.
Solution à 1 p. 12.000 . . . . .	5 œufs.
Solution à 1 p. 20.000 . . . . .	4 œufs.

Dans tous les tubes, les œufs résistent à l'éclosion jusqu'au 10 mai, date à laquelle les larves sont trouvées écloses dans les 3 derniers tubes renfermant les solutions les plus faibles (1 p. 10.000, 1 p. 20.000).

c) Une série de 4 tubes à essais, renfermant respectivement une solution à 1 p. 1.000, 1 p. 10.000, 1 p. 20.000, 1 p. 25.000 de permanganate, reçoivent chacun 4 œufs de *Stegomyia*, le 25 mai. Les solutions sont placées à l'étuve à 25° C.

Aucune éclosion n'est constatée jusqu'au 18 juin. A cette date, 2 larves écloses et mortes sont observées dans les solutions à 1 p. 10.000, 1 larve dans les solutions à 1 p. 25.000. Aucune nouvelle éclosion n'est constatée ultérieurement dans aucune des solutions.

Ainsi, les solutions faibles de permanganate de potasse peuvent provoquer dans certains cas l'éclosion des œufs durables, mais cette action stimulante est lente à se manifester et les résultats ne s'en font sentir souvent qu'après plusieurs semaines. Tout autres sont les résultats apparents obtenus avec les œufs actifs qui souvent éclosent en quelques secondes

d'une façon massive lorsqu'on les place au contact des solutions de permanganate comme nous l'avons indiqué.

*Action de l'hypochlorite de soude.* — Ce corps est certainement le plus actif et le plus sûr des excitants chimiques de l'éclosion pour les œufs de *Stegomyia*. Les dilutions les plus favorables sont comprises entre 1 p. 1.000 et 1 p. 5.000 de la solution d'hypochlorite commerciale à 96 grammes environ de Cl par litre. Les œufs libèrent leurs larves dans ces solutions, dans des délais variant habituellement de quelques minutes à vingt-quatre heures. On peut encore obtenir des résultats avec des solutions allant jusqu'à 1 p. 10.000, mais le temps d'action est alors plus prolongé et le succès plus aléatoire. Ces dilutions sont naturellement établies pour des eaux vierges de matières organiques.

EXPÉRIENCE I. — Des œufs latents, émis fin avril et conservés à sec, sont placés le 23 mai, par groupes de 10, respectivement dans des récipients renfermant des dilutions diverses de la solution commerciale d'hypochlorite de soude, savoir : solution à 1 p. 1.000, solution à 1 p. 2.000, solution à 1 p. 5.000, solution à 1 p. 10.000. Les témoins correspondants sont placés en eau de robinet.

Résultats après dix-huit heures : Dans la solution à 1 p. 1.000, résultats complets d'éclosion. Les larves sont trouvées mortes dans le liquide.

Dans la solution à 1 p. 2.000, on note 7 éclosions, les larves tuées dans le liquide, 3 œufs non éclos sont tués et décolorés.

Dans la solution à 1 p. 5.000, on note 4 éclosions; 1 des larves écloses récemment est encore vivante et mobile dans le liquide.

Dans la solution à 1 p. 10.000, aucune éclosion n'est encore constatée, non plus que dans le récipient témoin.

Résultats après vingt-quatre heures : Dans la solution à 1 p. 5.000, on note deux nouvelles larves écloses, mortes dans le liquide.

Dans la solution à 1 p. 10.000 aucune éclosion, non plus que dans l'eau témoin.

Résultats après trente-six heures : Dans la solution à 1 p. 5.000, toutes les larves écloses et mortes.

Dans la solution à 1 p. 10.000, aucun changement.

L'éclosion ne se manifeste dans la solution à 1 p. 10.000 que vers le sixième jour. Après six jours toutes les larves sont trouvées écloses et mortes dans le liquide. Dans le récipient témoin les œufs sont tous demeurés à l'état latent.

EXPÉRIENCE II. — Trente œufs sont conservés à l'état latent dans l'eau de robinet depuis trois mois. Le 27 mai, on ajoute à la solution qui les renferme une solution d'hypochlorite pour une dilution totale de 1 p. 5.000. Au bout de dix-huit heures aucune éclosion n'est constatée. On élève alors à 1 p. 1.000



la teneur en hypochlorite de la solution : au bout de dix-huit heures, on constate que tous les œufs ont libéré leurs larves qui sont mortes dans la solution.

EXPÉRIENCE III. — Des œufs, conservés à sec depuis un mois, sont placés dans une solution à 1 p. 20.000, pendant vingt-cinq jours, sans aucun résultat d'éclosion. Placés ensuite dans une solution à 1 p. 1.000 l'éclosion est totale en moins de cinq heures. Toutes les larves à ce moment sont trouvées mortes dans le liquide.

Toutes les expériences faites avec des solutions inférieures à 1 p. 10.000 (1 p. 20.000, 1 p. 30.000, 1 p. 40.000), ont donné des résultats le plus souvent négatifs. Quelques éclosions ont parfois été obtenues, mais qui peuvent ne pas avoir été provoquées par le Cl lui-même. C'est la dilution à 1 p. 1.000 qui, pratiquement paraît convenir le mieux pour assurer l'éclosion des larves dans un délai relativement court.

L'action stimulante de l'hypochlorite à cette dose est nettement plus complète et plus sûre que celle des excitants usuels. Elle permet de *révéler* la présence de larves vivantes dans des œufs latents qui ont résisté à l'intervention de ces excitants, comme les expériences suivantes le montrent.

EXPÉRIENCE IV. — 12 œufs conservés en athermobiose dans l'eau au laboratoire, du 25 janvier au 16 novembre suivant, sont soumis à cette date à une action mécanique de secouage qui provoque le 16 et le 17 novembre l'éclosion de 8 larves. Les quatre œufs restants résistent à l'éclosion par secouage et demeurent à l'état latent, sans éclore.

Seize jours plus tard, le 3 décembre, aucun de ces œufs n'ayant pu être appelé à l'éclosion par l'excitation mécanique, ils sont soumis à l'épreuve de l'hypochlorite à 1 p. 1.000. Au bout de vingt-quatre heures on trouve les 4 larves écloses et mortes dans la solution.

EXPÉRIENCE V. — 20 œufs du 28 janvier sont conservés en anhydrobiose prolongée pendant dix mois.

Le 12 novembre, après immersion dans l'eau de robinet, on observe 3 éclosions successives de larves sous l'influence de l'excitation physique de réhydratation, du 12 au 16 novembre.

Le 18 novembre, les œufs restants n'ayant pas libéré leurs larves, on ajoute à l'eau de la terre et des matières organiques pour solliciter l'éclosion par la souillure. Sous cette influence 5 nouvelles éclosions se produisent du 18 au 22 novembre.

Le 23, les larves écloses ayant été retirées, on pratique l'épreuve de l'hypochlorite à 1 p. 1.000 sur les œufs restants. On peut alors noter, en moins de vingt-quatre heures, 3 nouvelles éclosions, parmi ces œufs exceptionnellement résistants.

EXPÉRIENCE VI. — Un lot d'une cinquantaine d'œufs est conservé à sec pendant trois mois sur papier filtre. Le 25 mai, l'examen de ces œufs les

montre pour la plupart flétris et desséchés, non viables. L'immersion dans l'eau pure ne provoque aucune éclosion. L'épreuve à l'hypochlorite à 1 p. 1.000 est alors pratiquée, le 26 mai sur cette ponte qui paraît dans sa totalité détruite : au bout de dix-huit heures, on peut constater l'éclosion de deux petites larves qui meurent ultérieurement dans le liquide.

L'épreuve à l'hypochlorite a été renouvelée maintes fois avec des résultats si constants que je l'utilise couramment dans le laboratoire comme *test* de la viabilité des œufs, conservés à l'état latent pendant un certain temps. Quelques gouttes de la solution d'hypochlorite commerciale versées dans une eau de culture renfermant des œufs non éclos permettent de s'assurer de leur condition de viabilité.

Les solutions plus fortes ne conviennent pas autant pour la révélation des larves par l'éclosion provoquée que les solutions voisines de 1 p. 1.000. Sous l'influence de ces solutions fortes les œufs se décolorent et les larves sont tuées dans l'œuf avant de pouvoir se libérer de leur enveloppe. On peut cependant faire usage, pour *révéler* rapidement les larves dans les œufs, de solutions concentrées, mais en ne laissant les œufs à leur contact que pendant un temps très court, dans les conditions opératoires ci-après.

Ainsi, des œufs latents déposés sur les parois d'un vase sont placés pendant deux minutes au contact d'une solution à 50 p. 100 d'hypochlorite à 96 grammes de Cl. Au bout de ce temps la solution d'hypochlorite est retirée. On lave rapidement au robinet et on remplit d'eau le récipient. Après dix-huit heures un certain nombre de larves sont trouvées écloses et mortes dans le liquide, en présence des faibles quantités d'hypochlorite demeurées en solution.

III. — LES EXCITANTS BIOLOGIQUES. ACTION DES MICROBES ET DES DIASTASES. — C'est à Bacot que l'on doit l'importante notion du rôle favorisant joué par la présence des micro-organismes des eaux souillées sur l'éclosion de l'œuf des *Stegomyia*. Si l'on place dans deux récipients comparables des œufs durables de moustiques et si l'on verse dans l'un des récipients de l'eau pure, dans l'autre une eau riche en matières organiques et en microbes, on constate que dans le premier récipient le chiffre des éclosions est habituellement nul ou très

faible, tandis qu'il est d'ordinaire massif dans le second. L'épreuve de l'eau souillée, obtenue par exemple par une infusion de foin, ou d'autres matières végétales, ou par l'addition de substances stercorales, est une des épreuves les plus sûres et les plus commodes pour apprécier le degré de viabilité d'une ponte latente de *Stegomyia*, de même que l'épreuve de l'eau pure permet de différencier dans les trois ou quatre jours de la ponte les œufs *actifs*, susceptibles d'éclosion spontanée.

Par exemple, un lot de 20 œufs est placé en eau de robinet, à l'étuve à 23°, du 11 au 27 octobre. Il ne révèle aucune éclosion dans l'eau pure, à cette date.

Le 27, l'eau de robinet est remplacée par une eau souillée avec des fragments de crottes de lapin. On constate, le 28, l'éclosion de toutes les larves.

Un lot d'œufs, qui a subi sans succès l'immersion brusque dans l'acide acétique concentré, puis le passage en eau claire, est retiré sans avoir fourni une seule éclosion, le 28 octobre. On place alors ce lot dans de l'eau souillée par quelques fragments de bois pourri. On constate l'éclosion totale de tous les œufs dans les délais de un à quatre jours.

Un lot d'œufs ayant subi sans résultat l'immersion brusque dans l'acide sulfurique dilué à 50 p. 100, puis le passage à l'eau pure, est placé le 11 décembre dans une eau additionnée de fragments de crottes de cobayes. Eclosion de tous les œufs dans les délais de un à quatre jours.

Des œufs ayant résisté à un séjour de trente-six jours dans l'eau du robinet après un mois d'anhydrobiose antérieure sont placés le 10 décembre dans une eau souillée par quelques gouttes d'une macération de crottes de cobaye. Des éclosions se manifestent au bout de cinq heures.

Si dans une eau souillée, riche en matières organiques et en microorganismes divers, l'éclosion des œufs durables est le plus souvent rapide, il existe cependant des cas où les œufs durables résistent à l'éclosion dans ces conditions.

Ainsi, des œufs du 10 novembre sont placés aussitôt après la ponte par lots de dix, les uns en eau de robinet, les autres en eau souillée par une macération de crottes de cobaye. Du 10 novembre au 11 décembre, on ne note aucune éclosion ni dans l'un ni dans l'autre cas. L'éclosion ultérieure a été obtenue partiellement sous l'influence de l'éther (V. *ci-dessus*).

L'épreuve de l'eau souillée ne donne généralement pas des résultats d'éclosion aussi complets que le traitement à l'hypochlorite de soude, comme nous l'avons indiqué. La « réponse » des œufs en eau souillée est parfois imparfaite, mais elle n'en est pas moins dans l'ensemble tout à fait caractéristique.

Pour se rendre compte de l'action stimulante des microorganismes sur l'éclosion de l'œuf de *Stegomyia*, Bacot a effectué de nombreuses expériences en milieu stérile, avec Atkins, afin d'approfondir le phénomène. Ces auteurs attribuent à l'action des microorganismes vivants le rôle stimulant favorable sur les œufs. Ils n'ont point obtenu de résultats d'éclosion en plaçant des œufs stérilisés dans des cultures tuées ou *filtrées* de microbes ou de levures. Selon Bacot, le stimulus d'éclosion est donc absolument lié aux microorganismes vivants eux-mêmes; il ne serait autre qu'une sorte d'attraction odorante qui impressionnerait le sens olfactif des jeunes larves à travers la paroi de l'œuf.

Les expériences de l'auteur anglais sont, à vrai dire, assez confuses, inégales dans leurs résultats, de sorte que des doutes subsistent sur leur interprétation. J'ai repris l'étude de la question, avec M. J. Colas-Belcour, afin de tenter de situer le problème sous son véritable jour. L'exposé *in extenso* de ces expériences, publié précédemment dans une étude particulière à laquelle je renvoie (1), permet d'établir que le stimulus d'éclosion n'est pas nécessairement lié à la présence immédiate des corps microbiens ou des levures, mais qu'il dépend de produits solubles de leur activité, des diastases digestives.

Nous avons pu reconnaître que les diastases digestives animales ou végétales : pepsine, trypsine, papaïne en solutions faibles, agissent sur les œufs durables de la même manière que les cultures microbiennes ou leurs extraits.

Si l'on place des œufs dans une solution à 1 p. 100 de pepsine, on constate au bout de quelques heures à 28°C. une éclosion générale des œufs, tandis que la même solution portée au préalable à l'ébullition ne provoque pas d'éclosions.

Ainsi, une solution de pepsine à 1 p. 100, le 3 décembre, reçoit 12 œufs de *Stegomyia*, à l'état latent dans l'eau pure depuis le 15 novembre; une même quantité de la même solution, portée une minute à l'ébullition au préalable, reçoit aussi 12 œufs de la même souche.

Déjà au bout de deux heures une larve est libérée dans la solution de pepsine active, tandis qu'aucune n'apparaît dans la solution inactivée. Au bout de douze heures toutes les larves sont écloses dans la solution active, aucune dans la solution inactive.

(1) V. ces *Annales*, 43, mai 1929, p. 644.



Dans cette dernière solution qui, maintenue à 28°C. en conditions non aseptiques, se souille rapidement, la première larve ne fait son apparition qu'au bout de dix-huit heures; deux autres apparaissent au bout de quatorze heures et les autres dans les heures qui suivent. Ces éclosions ultérieures, qui se produisent dans les solutions de pepsine chauffées non stériles, sont dues au développement microbien secondaire qui ne tarde pas à envahir les solutions et masque les effets de la diastase pure. Pour éliminer à coup sûr cette cause d'erreur dans l'étude de l'action stimulante des diastases sur les œufs, nous avons, avec J. Colas-Belcour, refait ces expériences en condition stérile. Ces expériences, dont le détail est donné dans notre travail, confirment l'action stimulante des diastases actives. Les solutions diastasiques, dont le pouvoir digestif est détruit par la chaleur, n'exercent pas d'action stimulante sur l'éclosion; mais ces mêmes solutions chauffées reprennent leur activité sur les œufs lorsqu'on les réactive par l'addition d'une nouvelle quantité de diastase non chauffée. Ces expériences permettent d'éclairer le rôle spécifique des agents microbiens des eaux dans l'éclosion stegomyienne. Ce sont les produits solubles d'ordre diastasique sécrétés par les microorganismes qui impressionnent les œufs durables et provoquent leur éclosion.

Le pouvoir stimulant des diastases digestives est comparable à celui des solutions d'hypochlorite. La rapidité de la « réponse » d'éclosion varie suivant le degré de concentration et les larves, dans les solutions concentrées des diastases digestives, comme dans les solutions à 1 p. 1.000-1 p. 5.000 d'hypochlorite de soude, meurent après éclosion dans le liquide.

On voit donc qu'ici encore il ne saurait être question d'un instinct providentiel ou prophétique qui préside à l'éclosion de la jeune larve, mais d'un stimulant irrésistible qui l'appelle à la vie active, même lorsque les conditions du milieu extérieur lui sont contraires.

*Action des diastases digestives sur les œufs d'autres espèces d'Aédines.* — L'action spécifique des diastases digestives sur l'éclosion des œufs latents n'est pas limitée à l'éclosion du seul *Aedes argenteus*, le moustique de la fièvre jaune. Des expériences faites avec des œufs latents de notre espèce indigène *Aedes geniculatus* m'ont permis d'obtenir des résultats iden-

tiques. Il est donc vraisemblable que les diastases microbiennes des eaux de développement jouent un rôle très général dans le déterminisme de l'entrée en évolution des jeunes larves chez les moustiques de la tribu des Aédines. Bien que ces expériences n'aient pu être poussées aussi complètement que les précédentes, je donnerai ici quelques indications sur elles.

EXPÉRIENCE I. — Un lot de 10 œufs d'*Aedes geniculatus* ayant résisté à l'action de l'eau pendant deux mois est placé le 28 décembre en présence d'une solution faible de *pepsine*. Vingt-quatre heures après, on note l'éclosion d'une larve; les autres œufs demeurent à l'état latent.

Le 19 janvier, une nouvelle quantité de *pepsine* fraîche est ajoutée à la solution. En quarante-huit heures, on note l'éclosion des neuf autres larves. Tous les œufs témoins demeurés dans l'eau, même souillée par les produits de décomposition du bois, demeurent à l'état latent.

EXPÉRIENCE II. — Dix œufs d'*Aedes geniculatus* sont placés le 30 janvier dans une solution à 0 gr. 02 p. 100 de *pepsine*. On note l'éclosion d'une larve au bout de vingt-quatre heures, de deux autres larves le troisième jour, puis aucune éclosion ne se manifeste plus jusqu'au 23, date à laquelle on ajoute 1 centigramme de *pepsine* fraîche à la solution. Éclosion d'une larve nouvelle le 25.

EXPÉRIENCE III. — Des œufs d'*Aedes geniculatus* ayant résisté à l'action de l'eau souillée sont placés le 24 dans une solution non dosée de *trypsine*. Éclosion massive le 25.

On voit par ces expériences que les œufs latents de notre espèce d'Aédine indigène, vivant dans les trous d'arbres, paraissent se comporter de la même manière que ceux du moustique de la fièvre jaune. Le mécanisme de l'éclosion naturelle de ces œufs, en présence de microorganismes, est donc de même nature et l'on doit penser que cette curieuse réaction biologique, si parfaitement en rapport avec les conditions particulières de la résistance de l'œuf à l'éclosion, se retrouvera avec un caractère très général dans le groupe des Aédines.

*Mode d'action des diastases dans le déterminisme d'éclosion des œufs durables.* — Nos recherches établissent donc que l'œuf latent des *Stegomyia* se trouve remarquablement adapté à réagir, par une éclosion rapide, en présence des ferments solubles sécrétés par les microorganismes des eaux souillées. On comprend, dès lors, pourquoi ces œufs demeurent à l'état latent de façon prolongée dans les eaux pures, et pourquoi, au contraire, l'addition de matières en fermentation ou en décomposition, la

souillure des eaux par des bactéries ou des levures provoquent leur éclosion. Contrairement à l'opinion de Bacot, ce ne sont point les corps microbiens eux-mêmes qui stimulent cette éclosion par le mécanisme d'une attraction odorante ou gustative particulière. C'est une action particulière, liée au fonctionnement des diastases ou ferments solubles *actifs* sécrétés par les microorganismes, qui détermine l'éclosion. Quelle peut être cette action et le mécanisme d'éclosion qu'elle déclenche? C'est ce que nous aurons à examiner ultérieurement. Pour le moment, nous nous bornerons à constater que le choix réalisé par les femelles pour le dépôt de leurs œufs, soit des substances appelées à une fermentation rapide, soit des eaux souillées elles-mêmes, répond nettement aux conditions curieuses d'adaptation de l'œuf aux influences stimulantes microbiennes, dont nous envisagerons plus loin le mode d'intervention.

Quant à la réponse elle-même à la question posée au début de ce chapitre, à savoir la raison utilitaire pour laquelle les œufs sont déposés tantôt en condition excondée, tantôt directement en surface des eaux, si vraiment cette raison existe, nous ne pourrions la faire connaître qu'après avoir dans les deux chapitres ultérieurs étudié, d'une part les causes de la latence des œufs durables et, d'autre part, le mécanisme d'action des influences réactivantes sur ces œufs.

## DEUXIÈME PARTIE

### LE DÉTERMINISME DE L'INACTIVITÉ DES ŒUFS DURABLES

Dans la première partie de cette étude nous avons donc été amené à la notion que le *Stegomyia* de la fièvre jaune est caractérisé biologiquement par un dualisme évolutif initial très particulier. Tantôt il pond des œufs de capacité évolutive normale qui éclosent spontanément dans les délais habituels pour les Culicides, sans présenter de temps d'arrêt ou *diapause* anormale. Tantôt, au contraire, ses œufs ne parviennent à libérer leur larve qu'après une période prolongée de latence,

et sous l'influence de stimulants, ou excitants de l'éclosion, spécifiques. Nous avons reconnu que ces deux catégories physiologiques d'œufs pouvaient être différenciées par le critérium de l'éclosion spontanée en eau pure. Celle-ci caractérise les œufs *actifs*, tandis que les œufs *durables* ou inactifs sont généralement inaptes à l'éclosion dans une eau où ils échappent à l'intervention stimulante des sécrétions digestives des micro-organismes.

Nous avons indiqué également que ces différences physiologiques essentielles dans les propriétés de développement des œufs du moustique ne sont pas liées à l'état de l'œuf lui-même, mais bien à celui de la larve primaire qu'il renferme. Celle-ci, dans l'œuf durable, est en état de repos ou de torpeur, indépendante des actions de températures extérieures, tandis que la larve des œufs actifs présente des mouvements rapides qui permettent son éclosion précoce. Quelle est la raison de ces différences physiologiques chez les larves?

Les auteurs qui se sont attachés jusqu'ici au problème mystérieux que soulèvent les particularités troublantes de l'éclosion du moustique de la fièvre jaune n'ont point cherché d'autre interprétation du caractère résistant des œufs durables, que les raisons « instinctives » ou les nécessités immanentes de la conservation de l'espèce. Les œufs durables de ce moustique, assimilables aux œufs dénommés *œufs d'hiver* chez les espèces d'*Aédines* vivant dans les régions plus froides, correspondraient à une hérédité obscure, liée aux saisons, ou encore à une sorte d'instinct prophétique manifesté par les petites larves : celles-ci, guidées par cet instinct merveilleux, n'éclo-  
reraient qu'à bon escient quand elles trouveraient assurées les conditions propices à leur développement.

Je tenterai de situer ce problème complexe sous son véritable jour en étudiant les causes de cet état d'inertie spécial qui affecte les larves primaires dans les œufs durables. Après avoir montré précédemment que ces larves éclosent sous l'influence de stimulants qui peuvent être mortels pour elles et qu'il n'y a désormais point lieu de faire intervenir un instinct providentiel dans le mécanisme obscur de leur éclosion, nous allons maintenant essayer de rechercher les causes qui, chez les femelles pondeuses, président à la formation des œufs durables.



L'état d'inertie spontanée qui affecte les larves primaires dans ces œufs et les rend inaptes à une éclosion rapide présente tous les caractères de ces états d'asthénie pseudo-hivernale (asthénobiose) que j'ai étudiés chez de nombreux types d'insectes. Dans cet état, l'organisme traverse une période prolongée d'insensibilité apparente aux actions activantes de la température extérieure. La cause essentielle de cette phase de dépression physiologique paraît être une sorte d'intoxication spécifique liée à une suractivité métabolique antérieure, et qui se manifeste parfois cycliquement comme un héritage toxique, au cours de certaines générations. On verra que ces conceptions, plus amplement développées ailleurs, trouvent dans l'étude du *Stegomyia* une vérification incontestable.

### I. — Les différences

dans l'activité physiologique des femelles chez l'*Aedes argenteus*.

Leurs causes.

#### FEMELLES ACTIVES ET FEMELLES RALENTIES.

Si l'on étudie avec soin les conditions d'activité relative de la nutrition sanguine et de la ponte, chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune, on peut reconnaître que les différentes femelles examinées ne se comportent pas toutes de la même manière à cet égard. Il y a des femelles *actives* qui n'ont besoin que d'une seule prise de sang pour mûrir leurs œufs; il y a des femelles *ralenties* qui n'effectuent leur ponte qu'après deux, trois, quatre repas de sang ou même davantage.

C'est là une notion physiologique importante qui jusqu'ici n'a pas retenu suffisamment l'attention des observateurs. On s'accorde à considérer d'ordinaire que la ponte survient quatre à cinq jours après la prise de sang. Il existe cependant des différences importantes entre les femelles, à ce point de vue. Les expériences et observations ci-après en donnent quelques exemples. Il convient, bien entendu, pour apprécier ces différences dans l'activité alimentaire et reproductrice, de ne comparer entre eux que des individus strictement placés dans les mêmes conditions biologiques et autant que possible de

même âge. Les prises de sang effectuées sur le même type d'hôte seront naturellement complètes et normales, les moustiques n'étant pas dérangés au cours de leur repas et se gorgeant à discrétion.

OBSERVATION I. — *Femelles actives*. — 2 femelles tunisiennes du même lot de ponte, écloses le 3 mars et maintenues à 25-25° C., font leur premier repas de sang sur l'homme le 7 mars. Ces deux femelles sont aptes à la ponte sans autre alimentation ni sanguine ni sucrée. La ponte survient pour toutes les deux le 12 mars, cinq jours après la prise de sang.

OBS. II. — *Femelles ralenties*. — 3 femelles tunisiennes du même lot de ponte, écloses le 20 mars, sont maintenues à 25-28° C. dans les mêmes conditions que les précédentes. Elles font un premier repas de sang sur l'homme le 22. Ce repas unique n'est plus suffisant ici pour provoquer la ponte. Les 3 femelles doivent faire un deuxième repas de sang le 25 pour pondre le 27, soit cinq jours après la première prise de sang.

OBS. III. — *Femelle active*. — 1 femelle originaire d'un œuf provenant des Indes Néerlandaises (Batavia) éclot le 26 octobre. Placée à 25-23° C. dans les mêmes conditions que les précédentes, cette femelle fait un unique repas de sang le 29. La ponte a lieu sans autre alimentation le 2 novembre, quatre jours après la prise de sang.

OBS. IV. — *Femelle ralentie*. — 1 femelle originaire d'un œuf provenant des Indes Néerlandaises (Batavia) éclot le 2 novembre. Placée à 25-28° C. comme la précédente, cette femelle fait un premier repas de sang sur l'homme le 3. Ce repas unique n'est pas suffisant pour permettre la ponte et la femelle doit se gorger à nouveau le 6 (deuxième repas), le 10 (troisième repas), le 13 novembre (quatrième repas), soit quatre repas de sang successifs avant de déposer sa ponte. Le 18, la femelle est sacrifiée. Dans les ovaires on trouve plusieurs œufs voisins de la maturité, mais non encore aptes à être évacués.

Il serait facile de multiplier ces observations et l'on trouvera dans les expériences exposées au cours des pages suivantes des exemples divers de ces grandes variations des femelles au point de vue de la rapidité de l'entrée en gestation et du nombre des repas de sang nécessaires à la ponte. Ce n'est point là d'ailleurs un phénomène particulier à l'*Aëdes* de la fièvre jaune. D'autres espèces culicidiennes, en particulier l'*Anopheles maculipennis*, présentent, comme on sait, des variations analogues et qui s'observent d'une manière apparemment cyclique au cours des saisons (Grassi, Sella). Nous avons montré (1923) que ces particularités physiologiques ne dépendaient pas de la température extérieure, mais des conditions internes d'asthénobiose. Nous dénommerons femelles *actives* les femelles de *Stegomyia* qui parviennent à la ponte dans un délai de quatre à cinq jours environ après une seule prise de sang à la température

courante de 25-28° C. de nos élevages. Celles qui nécessitent au moins deux prises de sang normales pour mûrir leurs œufs seront considérées comme des femelles *ralenties*.

En étudiant systématiquement les causes de cette variation de l'activité biologique, plus ou moins grande chez les femelles de l'Aedes, on peut se rendre compte que le ralentissement métabolique est l'expression même de l'âge, du vieillissement, ou de la fatigue, celle-ci pouvant être occasionnée par des conditions de développement pénibles à l'état larvaire, ou *héritée comme tare physiologique directe* d'une inactivité métabolique des générations antérieures. Ces influences dont nous allons donner des exemples sont d'une grande importance à considérer, car elles orientent immédiatement les idées, selon nos conceptions théoriques générales du ralentissement métabolique, sur des influences toxiques internes de surcharge et de suractivité.

a) INFLUENCE DE L'ÂGE SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES FEMELLES.

— L'influence de l'âge est très nette et nous renverrons pour l'apprécier à l'examen de l'expérience A ci-après. On y voit que les femelles *a'* et *a''* de cette expérience, *actives* avant la première ponte, sont devenues *ralenties* à leur deuxième. Ces femelles n'ont fait qu'un seul repas de sang pour mûrir leurs œufs en cinq jours lors de la première ponte; elles ont fait deux repas de sang et n'ont mûri leurs œufs qu'au bout de huit jours pour l'une, dix jours pour l'autre, lors de la deuxième ponte. Comme il était facile de le prévoir, l'âge des femelles influe donc sur l'activité de leur reproduction.

b) INFLUENCE DES CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES FEMELLES. ACTIONS TOXIQUES DU SURPEUPLEMENT. — Les femelles de *Stegomyia* sont généralement ralenties lorsque leur développement larvaire s'est effectué d'une façon lente, soit en raison d'une inactivité individuelle spontanée, soit par suite des conditions toxiques ou défavorables du milieu.

*Ralentissement physiologique produit par le surpeuplement larvaire dans les eaux de développement.* — Il est courant de constater dans les élevages que certaines larves s'accroissent

beaucoup plus vite que d'autres, ou inversement que certaines larves n'évoluent que beaucoup plus lentement que leurs congénères, toutes les conditions de l'élevage restant les mêmes. Habituellement, la rapidité du développement larvaire est influencée par le surpeuplement. Il est facile de concevoir, en effet, que dans des collections d'eau aussi réduites que celles où se développent les larves de *Stegomyia* un groupement abondant de larves diminue notablement la nourriture disponible et influe par suite sur la rapidité de la croissance. C'est ce que les expériences ci-après permettent de vérifier.

EXPÉRIENCE I. — 200 larves environ, écloses le 25 mai, sont isolées ce jour dans un récipient de 1 litre renfermant 1/2 litre de liquide de culture. Trois jours plus tard, le 28, 30 de ces larves sont prélevées et placées à part dans un récipient de même contenance et renfermant 1/4 de litre de la même eau de développement. Les conditions de température sont les mêmes. Déjà au bout de trois jours on constate des différences marquées dans la taille, au profit des larves isolées de la masse surpeuplée. Le 31, deux nymphes apparaissent dans le récipient de dédoublement; les larves restantes mesurent de 8 à 10 millimètres de long, tandis que dans le récipient d'élevage général les larves vivant en condition surpeuplée ne mesurent que de 4 à 6 millimètres. Les deux premières nymphes n'apparaissent que le 1<sup>er</sup> juin dans le récipient le plus peuplé, tandis que dans le moins peuplé toutes les larves sont déjà transformées en nymphes à cette date.

EXPÉRIENCE II. — Un flacon de 1/4 de litre renferme une culture d'une vingtaine de larves écloses le 25 mai d'œufs conservés à sec pendant six mois. Au troisième jour de l'élevage, le 28 mai, 3 larves sont prélevées avec 20 cent. cubes d'eau de développement et placées dans un récipient séparé de même contenance. Trois jours plus tard, le 31, les trois petites larves évoluant à part ont dépassé les dimensions des larves sœurs vivant en milieu surpeuplé. La nymphose survient quelques heures plus tôt pour les larves isolées et les nymphes produites sont beaucoup plus grosses que celles du récipient surpeuplé.

Les effets du surpeuplement se traduisent avant tout par une réduction de la taille des individus produits. Lorsqu'ils s'accompagnent également d'un certain retard dans l'évolution larvaire de quelques individus, on constate que les individus ayant évolué le plus lentement se montrent également plus ralentis dans leur activité physiologique, manifestée par la rapidité plus ou moins grande de la ponte. Il convient naturellement ici de ne comparer que des individus de même sexe, car les mâles évoluent habituellement plus vite que les femelles.



Les expériences mentionnées ci-après montrent que, si l'on compare des femelles du même élevage ayant évolué avec une rapidité différente, on constate que les femelles qui ont eu l'évolution larvaire la plus lente sont également celles dont l'activité physiologique est la plus ralentie.

EXPÉRIENCE H. — Cette expérience dont le détail est exposé plus loin montre 2 femelles sœurs, d'origine javanaise, issues du même lot d'élevage, qui se sont comportées de façon très différente, quoique élevées dans le même récipient.

Ces deux moustiques proviennent d'œufs durables placés en élevage le 16 octobre. Une première femelle H<sup>1</sup> ayant évolué en dix jours prend un unique repas de sang le 29 octobre et pond trois jours après.

La deuxième femelle au contraire présente une évolution beaucoup plus lente à la même température. Elle ne parvient à l'éclosion que le 2 novembre (dix-sept jours). Cette femelle, à évolution plus lente, ne peut mûrir ses œufs rapidement. Elle doit faire 4 repas de sang, les 3, 6, 10 et 13 novembre, avant d'être en état de développer sa ponte avec un retard d'une quinzaine de jours sur ses congénères.

Quelquefois les différences d'activité physiologique se manifestent entre les femelles pour des différences dans la rapidité de l'évolution larvaire beaucoup moindres.

EXPÉRIENCE. — Dans cette expérience déjà exposée nous voyons 3 femelles d'origine javanaise, issues du même lot d'élevage, provenant d'œufs mis en culture le 21 novembre, se comporter différemment.

Une première femelle, née le plus rapidement, le 2 décembre, après onze jours d'évolution, ne doit faire qu'un seul repas de sang le 4 pour pondre le 7 décembre.

Une deuxième femelle, née le 3, après vingt-quatre heures de retard sur la précédente, doit faire deux repas de sang, les 5 et 8 décembre, avant d'être amenée à la ponte le 11 décembre.

L'émission des œufs survient avec quatre jours de retard pour une durée d'évolution de vingt-quatre heures, seulement plus tardive.

La troisième femelle, née le 4 décembre (quarante-huit heures de retard sur la femelle K<sup>1</sup>) doit faire trois repas de sang, les 5, 8, 9 décembre, avant d'émettre sa ponte le 12 décembre, après cinq jours de retard sur la femelle K<sup>1</sup>, pour une durée d'évolution de quarante-huit heures plus tardive.

L'expérience réalisée avec des *Stegomyia* d'origine tunisienne montre, par rapport à l'expérience A, des différences de même nature entre des femelles du même lot de ponte, mais élevées dans des conditions de surpeuplement différentes.

*Diapause secondaire chez les larves et raréfaction des femelles produite par les influences toxiques de surpeuple-*

*ment.* — Nous voyons donc, d'après ces expériences, combien les conditions de l'évolution larvaire sont susceptibles de retentir sur l'activité physiologique des moustiques adultes. A quoi sont dus ces retards évolutifs qui frappent certains individus dans les élevages et relentissent, par une sorte de vieillissement précoce, sur leur physiologie à l'état adulte?

Les expériences que nous allons exposer montrent que la concurrence alimentaire n'est que secondaire dans le ralentissement évolutif larvaire en condition surpeuplée. Ce sont les actions toxiques liées à l'émission en abondance des excréta des larves dans le milieu commun qui agissent sur les individus en provoquant un ralentissement plus ou moins marqué de leur métabolisme, dont nous allons étudier les conséquences diverses.

Dans l'expérience K<sup>a</sup>, développée ci-après, nous verrons que des larves ayant évolué dans une eau qui a déjà servi à un précédent élevage et qui est par suite chargée d'excreta larvaires donnent des individus moins actifs à la ponte que les témoins élevés dans les mêmes conditions alimentaires, mais en eau neuve. On observe donc pour le *Stegomyia* vivant dans des collections d'eau très faibles les mêmes influences toxiques liées au surpeuplement que j'ai signalées précédemment pour les larves d'*Anophélines* vivant en position superficielle et qui jouent un si grand rôle dans les conditions de développement de ces moustiques.

Les expériences ci-après permettent de se rendre compte de l'influence profonde exercée sur l'évolution des *Stegomyia* par l'accumulation dans leur milieu de développement de substances d'excrétion dérivées du métabolisme normal de ces larves ou de fermentations albuminoïdes. Ces substances provoquent un ralentissement plus ou moins accusé de l'évolution larvaire, parfois même un arrêt complet de cette dernière avec *tendance à la disparition du sexe femelle*.

EXPÉRIENCE K<sup>a</sup>. — Des larves écloses le 21 novembre d'œufs durables d'origine javanaise sont réparties dans plusieurs récipients de même contenance, placés dans les mêmes conditions thermiques (28° C.), renfermant la même macération de stigmates de maïs comme milieu de développement. A certains de ces récipients sont ajoutées des substances diverses correspondant aux excréta naturels des larves : guanine, carbonate d'ammoniaque, carbonate de chaux. Les résultats de développement obtenus sont résumés ci-après.

I. *Lot témoin*. — 20 larves dans une macération fraîche de stigmates de maïs. Les premières nymphes se forment le septième jour, les premiers imagos femelles le dixième jour. 11 mâles produits pour 9 femelles.

II. *Lot renfermant 1 gramme de guanine*. — 8 larves donnant une seule évolution femelle en dix-huit jours.

III. *Lot renfermant 1 p. 1.000 de carbonate d'ammoniaque*. — 20 larves donnant 10 imagos mâles ayant évolué en dix-dix-sept jours. A partir du dix-septième jour, les 10 larves restantes restent pour la plupart en *diapause* ou 3<sup>e</sup> stade sans évoluer. Une seule nymphe se forme le 3 décembre donnant un mâle le 16 décembre (vingt-sixième jour). Toutes les autres larves en diapause meurent progressivement sans évoluer en imagos dans les jours qui suivent. Dans cette expérience aucune femelle n'a été obtenue à l'état imaginal.

IV. *Lot renfermant 5 grammes de carbonate de chaux* (1). — 15 larves donnant les premiers imagos mâles en dix jours, la première femelle en treize jours. 5 femelles pour 10 mâles ont été obtenues, la dernière femelle ayant évolué en vingt-cinq jours.

Cette première série d'expériences fait ressortir que toutes les substances de désassimilation mentionnées exercent sur le développement larvaire un ralentissement marqué. L'action la plus accusée est celle du carbonate d'ammoniaque à 1 p. 1.000. En présence de ce corps nous avons constaté que la moitié des larves sont devenues incapables au quatrième stade de poursuivre leur évolution dans les délais normaux. 9 larves sur 10 sont mortes sans se transformer, arrêtées fatalement dans leur évolution après la troisième mue et ayant prolongé leur dernier stade larvaire pendant une période près de dix fois plus longue que la durée normale de ce stade.

Ce phénomène remarquable peut être interprété comme correspondant à la réalisation expérimentale d'une nouvelle *diapause* larvaire ou période d'arrêt évolutif obligatoire, assez comparable à l'état initial d'arrêt évolutif qui frappe les larves primaires dans les œufs durables. On peut lui donner le nom de *diapause secondaire*. Cette diapause, ou suspension évolutive secondaire, survenant chez les larves à son dernier stade évolutif de manière à empêcher plus ou moins complètement la transformation nymphale, est comparable à la diapause hivernale naturelle qui, comme je l'ai montré avec J. Colas-Belcour (2), affecte au même stade évolutif la larve

(1) Le carbonate de Ca est un produit constant d'élimination des larves des moustiques, comme d'une façon générale des diptères. Il est constamment évacué par les fèces et se montre présent en quantité dans les tubes de Malpighi.

(2) C. R. Acad. des Sciences, 29 mars 1926.

de l'*Aedes geniculatus* ayant évolué à basse température.

Un autre phénomène biologiquement important et curieux résultant de ces influences toxiques s'exerçant au cours du développement larvaire réside dans la sensibilité plus marquée des femelles que des mâles à ces influences. Alors que normalement l'évolution des femelles ne retarde guère que de vingt-quatre heures environ sur celle des mâles, nous voyons cette

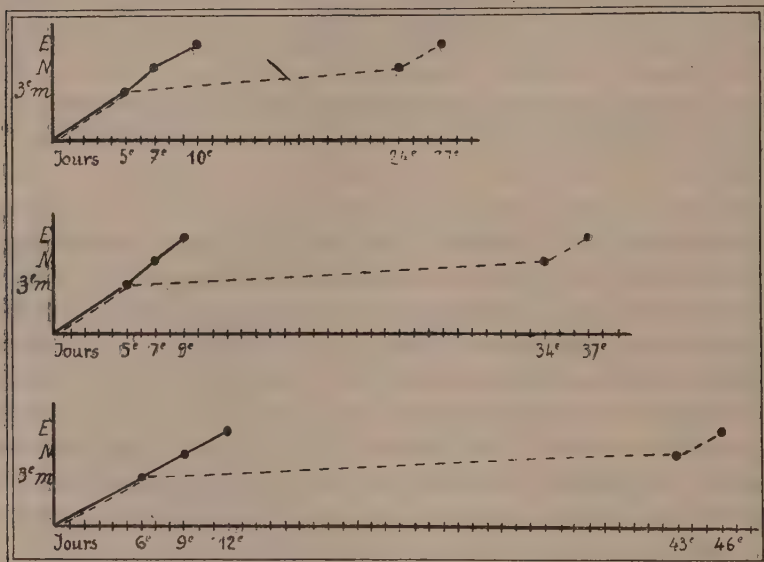


FIG. 3. — Variations extrêmes du temps d'évolution larvaire dans des élevages soumis à l'action retardante des facteurs ammoniacaux (En trait plein, le temps le plus court; en pointillé, le temps le plus long observé). En haut, élevage *témoin*, normal; au milieu, élevage en présence d'ammoniac à 1 p. 1.000; en bas, élevage en présence de carbonate d'ammoniac à 1 p. 1.000. On notera le ralentissement extrême de l'évolution après la 3<sup>e</sup> mue (diapause secondaire toxique) pour les deux derniers élevages.

.3<sup>e</sup> M, 3<sup>e</sup> mue; N, nymphose; E, éclosion imaginale.

évolution, dans les milieux chargés d'excreta divers, retarder bien davantage. Nous voyons même qu'en présence de carbonate d'ammoniac *aucune femelle n'a pu parvenir à l'éclosion*. Toutes ces influences toxiques exercées par les matériaux divers de désassimilation accumulés dans les milieux de développement réalisent dans l'ensemble le phénomène curieux de la raréfaction des imagoes femelles.



L'importance de ces faits m'a incité à contrôler ces premières données par d'autres expériences que je vais développer ci-après.

EXPÉRIENCE L. — Des larves écloses le 15 décembre d'un lot de 300 œufs d'origine javanaise sont réparties par lots d'une trentaine dans trois récipients semblables, contenant la même macération fraîche de stigmates de maïs. A ce milieu de culture, est ajouté pour l'un des lots 1 p. 1.000 d'une solution ammoniacale commerciale à 10 p. 100. Un deuxième lot reçoit

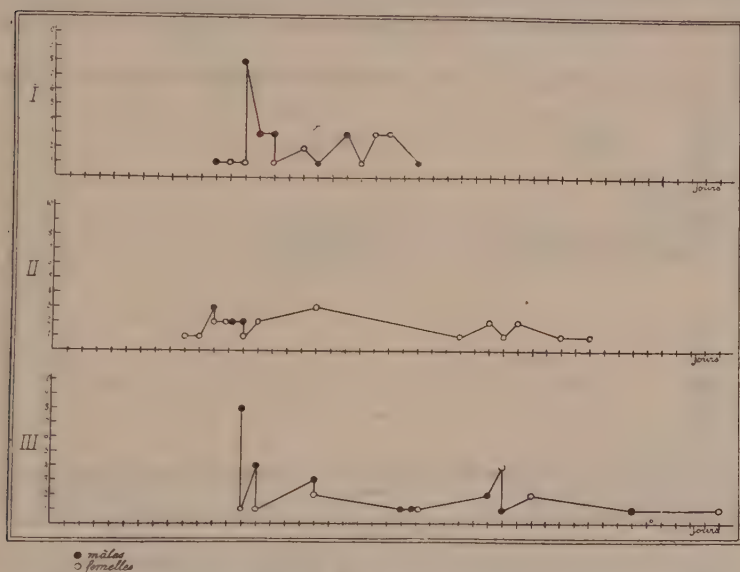


FIG. 4. — Séparation des sexes et tendance à la disparition des femelles. Graphiques montrant l'effet des actions toxiques du milieu de développement sur la proportion relative et les délais d'apparition des imagos des deux sexes, dans l'Exp. L (verticalement, le nombre d'individus éclos; horizontalement, les jours).

I, élevage témoin, normal; II, élevage en présence d'ammoniaque (retard marqué des femelles); III, élevage au carbonate d'ammoniaque (retard et raréfaction des femelles).

1 p. 1.000 de carbonate d'ammoniaque. Le troisième lot est réservé comme témoin.

I. Lot témoin. — 30 larves évoluant dans une macération fraîche de stigmates de maïs. Le temps d'évolution le plus court observé a été pour les mâles de onze jours, pour les femelles douze jours. Le temps le plus long pour les mâles de vingt-sept jours, pour les femelles vingt-six jours.

30 imagos ont été obtenus donnant 18 mâles pour 12 femelles. Les transformations et éclosions des moustiques se sont succédé progressivement, sans discontinuité comme le fait ressortir le graphique I.

II. Lot renfermant 1 p. 1.000 d'une solution ammoniacale au 1/10. — 30 larves

mises en expérience. Le temps le plus court d'évolution observé a été pour les mâles de onze jours, pour les femelles de neuf jours. Le temps le plus long pour les mâles de treize jours, pour les femelles de trente-sept jours. 24 imagos ont été obtenus, dont 7 mâles pour 17 femelles.

Dans cet élevage, comme le fait ressortir le graphique 2, le développement s'est montré brusquement ralenti à partir du dix-neuvième jour par une diapause secondaire affectant les larves au quatrième stade. Un tiers des individus de l'élevage a été affecté par cet arrêt évolutif qui a porté, comme le montre le graphique, *exclusivement sur des larves destinées à produire des femelles*. A partir du vingt-huitième jour, la diapause a pris fin brusquement pour un certain nombre de larves, qui se sont transformées successivement. Mais une mortalité appréciable s'est cependant fait sentir : 6 larves ou

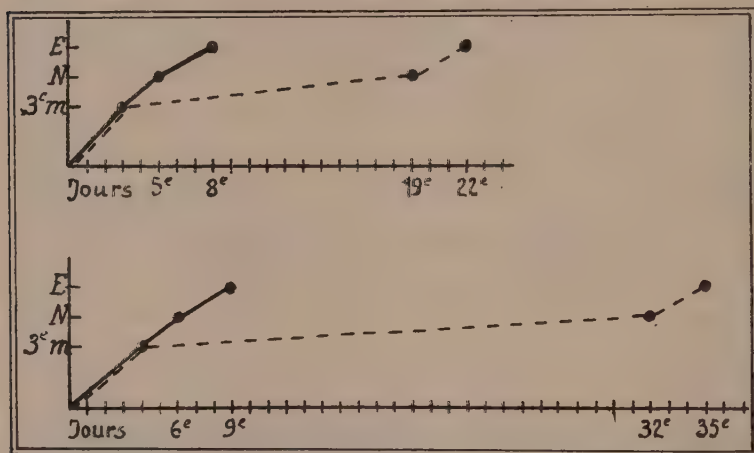


FIG. 5. — Action retardante de la guanine sur le développement larvaire de *Aedes argenteus*. En haut, élevage *Témoin*, normal (en trait plein, le temps le plus court d'évolution; en trait pointillé, le temps le plus long observé). En bas, mêmes constatations pour l'élevage effectué en présence de *guanine*. On note un ralentissement marqué de l'évolution après la 3<sup>e</sup> mue (diapause secondaire toxique).

3<sup>e</sup> M, 3<sup>e</sup> mue; N, nymphose; E, éclosion imaginale.

nymphes sont mortes sans parvenir à l'éclosion, à partir du vingtième jour.

III. *Lot renfermant 1 p. 4.000 de carbonate d'ammoniaque*. — 43 larves mises en expérience. Le temps le plus court d'évolution observé a été, pour les mâles, de treize jours, pour les femelles de treize jours également.

Le temps le plus long d'évolution pour les mâles a été de quarante jours, pour les femelles de quarante-six jours. 36 individus adultes ont été obtenus, dont 23 mâles pour 12 femelles.

Comme le montrent les graphiques, le développement imaginal, d'abord actif et continu pendant les premiers jours, s'est trouvé ensuite très ralenti, irrégulier et discontinu.

A partir du dix-huitième jour près des deux tiers des larves sont demeurées en état de diapause ou suspension évolutive secondaire au quatrième stade.

La nymphose et la reprise ultérieure de l'évolution ne sont survenues que d'une façon très lente et incertaine comme le montre le graphique.

Le trentième jour, il demeure encore 8 larves non transformées. Ces larves meurent progressivement sans évoluer dans les jours qui suivent. Deux dernières transformations extrêmes sont encore obtenues, l'une le quarantième jour donnant un mâle, l'autre le quarante-sixième jour donnant une femelle. Ces deux individus, exagérément tardifs, furent d'ailleurs non viables.

EXPÉRIENCE M. — Des larves provenant d'une éclosion massive, le 21 décembre, d'œufs d'un élevage général sont réparties en deux groupes d'élevage de

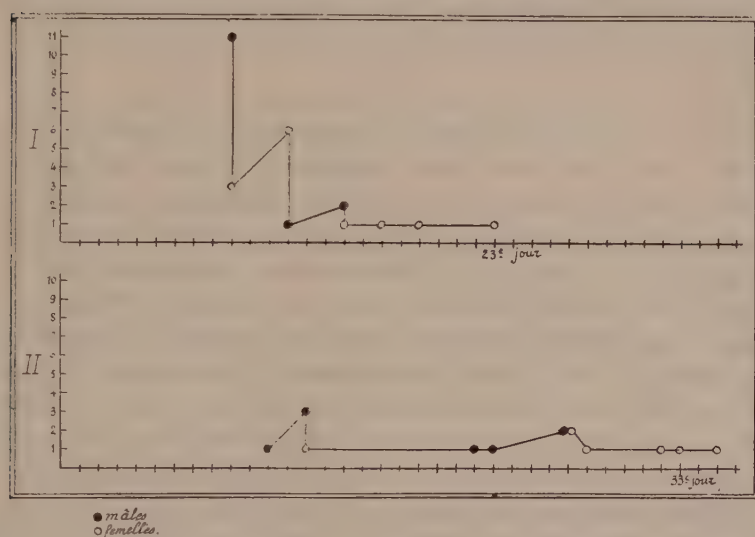


FIG. 6. — Séparation des sexes et tendance à la disparition des femelles. Graphiques montrant les effets des actions toxiques du milieu de développement sur la proportion relative et les délais d'apparition des imagos des deux sexes. Exp. M.

I, Elevage témoin, normal; II, élevage en présence de guanine (retard général marqué et raréfaction dans l'apparition des femelles) [verticalement, les nombres d'individus éclos; horizontalement, les jours].

trente larves chacun, dans deux récipients identiques renfermant la même macération fraîche de stigmates de maïs comme milieu d'élevage.

L'un de ces récipients est gardé comme témoin : l'autre reçoit une dose d'environ 1 gramme de guanine. Les résultats de l'évolution des larves dans ces deux lots furent les suivants :

*Lot témoin.* — Le temps le plus court d'évolution a été pour les deux sexes de huit jours. Le temps le plus long, pour les mâles de quatorze jours, pour les femelles de dix-neuf jours.

Entre ces deux termes extrêmes, les éclosions se sont développées d'une façon continue. Le nombre des individus des deux sexes obtenus a été sensiblement équivalent, 13 mâles pour 13 femelles, celles-ci, suivant la règle

habituelle, se développant un peu plus tardivement que les mâles (voir graphique I).

*Lot à la guanine.* — Le temps le plus court d'évolution observé a été pour les mâles de onze jours, pour les femelles de treize jours. Le temps le plus long, pour les mâles de vingt-sept jours, pour les femelles de trente-six jours.

A partir du quatorzième jour une *diapause secondaire* a affecté les larves au quatrième stade subsistantes, qui sont demeurées à l'état latent sans pouvoir se transformer pendant un temps relativement prolongé (allant jusqu'à trente-neuf jours). Ce temps d'arrêt a cessé progressivement pour les mâles à partir du vingt-troisième jour, pour les femelles du vingt-neuvième jour. La proportion d'imagos des deux sexes obtenue a été équivalente, mais le retard dans l'apparition des femelles a été beaucoup plus marqué que pour les mâles comme les graphiques (fig. 5 et 6) le montrent.

Ainsi la marche du développement pour le Moustique de la fièvre jaune peut être considérablement affectée par la présence, dans les lieux où se développent les larves, de quantités légères de substances d'excrétion azotée dérivées du métabolisme de ces organismes. L'ammoniaque, le carbonate d'ammoniaque, la guanine accumulés dans les eaux de développement sont susceptibles de retarder considérablement l'évolution de certains individus, qui ne parviennent à l'état imaginal, lorsqu'ils y parviennent, qu'après des délais deux à trois fois plus longs que les délais normaux pour d'autres individus plus actifs.

L'action retardante de ces substances dérivées du métabolisme s'exerce plus particulièrement sur les larves destinées à produire des femelles. Elle tend à provoquer une raréfaction manifeste de ces dernières, parfois même leur disparition complète des élevages (*spanogynie*).

Si, dans les deux dernières expériences les résultats obtenus dans ce sens ont été moins absolus que dans la première, il convient, je pense, d'en rapporter la cause à ce que dans les dernières expériences (L et M) les larves mises en expérience n'étaient pas toutes strictement des larves nouvellement écloses. Quelques-unes d'entre elles étaient âgées de vingt-quatre heures avant le début des expériences. Il semble que ces actions toxiques retardantes doivent agir sur les larves dès le début de l'éclosion pour pouvoir exercer la plénitude physiologique de leurs effets. La diapause obtenue expérimentalement par voie chimique est encore ici comparable à celle que provoque, par un effet curieux d'induction, l'action du froid sur les larves de



*Aedes geniculatus*. Ces larves n'entrent en diapause au quatrième stade que si les effets de l'athermobiose se sont fait sentir dès les plus jeunes stades évolutifs.

Dans tous les cas étudiés, le ralentissement ou l'arrêt évolutif réalisés par les modifications chimiques du milieu ont porté sur des larves au quatrième stade, c'est-à-dire ayant achevé leur évolution larvaire. L'effet des substances toxiques de surpeuplement sur les larves se traduit surtout en empêchant la transformation nymphale, alors que la croissance initiale des larves n'est pas ou n'est que peu modifiée. Les larves en diapause secondaire expérimentale sont lentes, peu actives malgré la chaleur. Elles sont comparables aux larves en diapause hivernale au quatrième stade de l'*Aedes geniculatus* (Roubaud et Colas-Belcour 1926).

L'arrêt ou le ralentissement évolutif déterminé chez les larves de *Stegomyia* par les substances azotées de désassimilation surchargeant leur milieu de développement n'est pas dû à l'alcalinité seule du milieu. Dans des milieux plus nettement alcalins que ceux des expériences envisagées, le développement n'a pas subi de ralentissement notable. On doit donc, semble-t-il, envisager l'état de *diapause secondaire* réalisé, comme la conséquence d'une action spécifique exercée sur le métabolisme par la surcharge en éléments azotés d'excrétion. Et nous verrons dans le cours de cette étude que nous arriverons à la même notion en étudiant l'origine de la *diapause primaire* qui affecte les larves d'*Aédines* à l'intérieur de l'œuf durable.

*Ralentissement physiologique chez les femelles issues de larves expérimentalement ralenties dans leur développement par diapause secondaire toxique.* — De même que les individus retardés dans les élevages normaux, les femelles obtenues tardivement par effet de diapause secondaire, dans nos expériences sur l'action ralentissante des substances d'excrétion accumulées dans le milieu, se sont montrées d'activité physiologique atténuée.

Ainsi, 3 femelles obtenues dans les expériences L et M précédentes sous les effets ralentissants de la guanine, du carbonate d'ammoniaque et de l'ammoniaque, après une durée de développement qui a nécessité plus de un mois à 28° C., sont isolées après fécondation et suivies.

Deux d'entre elles doivent faire trois repas de sang successifs dans l'intervalle de six jours avant d'être aptes à la première ponte, celle-ci survenant treize à quatorze jours après l'éclosion. La troisième fait *six repas de sang* dans l'intervalle de *dix-neuf jours* avant de mûrir ses œufs. La première ponte ne survient que trente jours après l'éclosion de la femelle.

c) **RALENTISSEMENT PHYSIOLOGIQUE PRODUIT PAR UN ÉTAT DE FATIGUE HÉRÉDITAIRE DANS LES GÉNÉRATIONS SURACTIVES. EFFET RÉACTIVANT D'UN DÉVELOPPEMENT EN CONDITION HYPOTHERMIQUE.** — Le ralentissement physiologique apparaît enfin chez les femelles comme conséquence d'un état de fatigue ou d'asthénie affectant héréditairement les générations issues de femelles actives. Ces dernières, en effet, l'expérience le montre, ne transmettent pas à leurs descendants leurs conditions d'activité physiologique : les générations issues de femelles actives sont des générations ralenties.

Par exemple, dans l'expérience J exposée plus loin, nous voyons que des femelles issues d'une femelle active initiale H<sup>1</sup>, sont toutes des femelles physiologiquement ralenties. Alors que la femelle mère active n'a pris qu'une fois du sang pour mûrir sa ponte, les femelles filles ralenties doivent faire de trois à quatre prises de sang pour parvenir à la ponte dans des délais beaucoup plus tardifs.

Les descendantes de la femelle K, qui a pondu ses œufs en trois jours après une seule prise de sang, sont toutes des femelles ralenties qui ont dû faire jusqu'à cinq prises de sang successives avant d'être aptes à la ponte une dizaine de jours plus tard.

Ce ralentissement physiologique apparaît bien comme la résultante d'un état de dépression héréditaire, lié à la suractivité métabolique des générations maintenues constamment dans les hautes conditions thermiques qui représentent l'optimum évolutif pour le *Stegomyia*. Les générations surmenées par un développement inactif continu à haute température perdent l'activité.

J'ai pu constater en effet que ces larses physiologiques d'asthénie ou de dépression héréditaire ne se manifestent pas chez les descendantes des femelles actives qui ont évolué à température plus basse, c'est-à-dire au-dessous de la limite de 20° C.

qui correspond pour l'espèce à la limite d'activité physiologique normale.

Par exemple, dans la même expérience J, citée ci-dessus, la femelle J<sup>3</sup>, sœur de la précédente, mais élevée à température plus basse, a conservé l'activité physiologique de la femelle mère H<sup>1</sup>. Cette femelle J<sup>1</sup> provient d'un élevage qui à l'état de larve a évolué à température voisine de 18° C. comme moyenne thermique. La femelle J<sup>1</sup> issue à basse température d'une femelle active n'a pris qu'une fois du sang avant de produire ses œufs.

Ainsi l'état de dépression héréditaire des femelles issues de générations actives peut être atténué à la faveur d'un développement larvaire moins actif, lorsque l'insecte est placé en condition d'hypothermobiose. Nous voyons encore une fois ici se manifester sur l'espèce les effets réactivants du froid dont nous avons déjà indiqué l'action sur les œufs durables. Bien que le *Stegomyia* de la fièvre jaune représente typiquement un insecte *thermophile*, essentiellement adapté à un haut degré thermique permanent, l'expérience montre que l'activité physiologique de l'insecte souffre de la permanence de ce haut degré thermique. Nous voyons effectivement dans les élevages à 25-30° C. continus survenir parfois une suspension temporaire ou même un arrêt complet de la ponte, pendant un certain temps. L'intervention pendant quelques jours d'une détente thermique ramène la fécondité.

Par exemple, des femelles javanaises élevées depuis deux générations sans arrêt à 28° C., après avoir pondu 300 œufs lors de leur première ponte le 29 novembre, ont vu s'éteindre ultérieurement pendant plus d'un mois leur activité reproductrice.

Des femelles tunisiennes dont la ponte était très ralentie, pour les mêmes raisons, ont repris une activité nouvelle après avoir été maintenues pendant une dizaine de jours en condition de détente à 16-18° C.

Nous avons donc passé en revue les différentes causes de fatigue qui peuvent intervenir de manière à ralentir l'activité physiologique des femelles. Ce ralentissement qui se constate à la lenteur de la ponte, aux besoins de sang exagérés qui affectent les mous-

tiques avant l'émission des œufs, est la conséquence soit de l'âge, soit d'un vieillissement précoce. Celui-ci est subordonné aux lenteurs diverses du développement larvaire, lorsque ce dernier s'effectue en milieu surchargé d'éléments d'excrétion toxiques. Enfin, le surmenage physiologique qu'entraîne une activité métabolique continue à haute température se traduit également dans la descendance des femelles actives par une dépression physiologique correspondante.

Nous allons retrouver, en étudiant les causes qui influent sur les caractères physiologiques de la ponte, la suite des mêmes influences, en constatant que la production ou la surproduction des œufs durables correspond aux influences diverses de dépression physiologique que nous avons décelées chez les femelles.

## II. — Les causes de la production des œufs durables.

I. SURPRODUCTION D'ŒUFS DURABLES SOUS L'INFLUENCE DU VIEILLESSEMENT. — La production par les femelles de pontes actives ou de pontes ralenties ne peut être déduite avec certitude de l'état apparent d'activité ou de ralentissement physiologique révélé par la rapidité plus ou moins grande des pontes. Des femelles qui n'ont mûri leurs œufs qu'après plusieurs repas de sang peuvent cependant donner naissance à une certaine proportion d'œufs actifs. Cependant, d'une façon générale, les femelles de condition physiologique *active*, c'est-à-dire mûrissant leurs œufs après un seul repas de sang, sont plus aptes que les femelles ralenties par l'âge ou la fatigue à produire des œufs actifs.

Nous montrerons tout d'abord que l'activité physiologique des femelles de *Stegomyia* étant ralentie par l'âge, la proportion des œufs durables dans les pontes augmente également avec le vieillissement.

*Influence de l'âge sur l'inactivité des pontes.* — L'expérience A ci-après permet de comparer la proportion des œufs durables ayant résisté à l'éclosion spontanée ou sub-spontanée, chez deux femelles tunisiennes, à la première et à la deuxième ponte. Ces deux femelles ont été nourries de sang sur l'homme, dans les mêmes conditions.



EXPÉRIENCE A. — Des œufs de *Stegomyia* originaires de Tunisie, pondus en novembre, sont conservés en condition d'anhydrobiose, à la température du laboratoire jusqu'au 25 février. Réhydratés ce jour, et mis en culture, ils donnent des larves qui à 25-28° C. évoluent d'une façon particulièrement

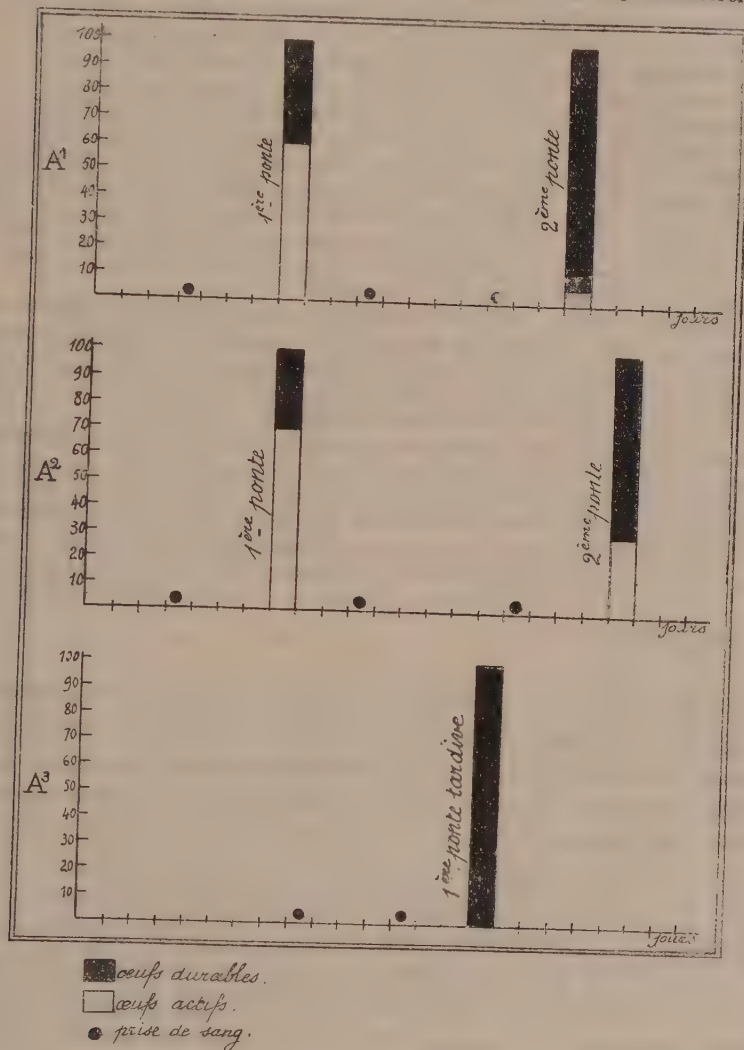


FIG. 7. — Influence de l'âge sur la production des œufs durables chez trois femelles A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> et A<sup>3</sup> (Exp. A) :

A<sup>1</sup>, à la première ponte on note 60 p. 100 d'œufs actifs, 40 p. 100 d'œufs durables; à la deuxième ponte 92 p. 100 d'œufs durables; A<sup>2</sup>, à la première ponte, 90 p. 100 d'œufs durables; à la deuxième ponte, 70 p. 100; A<sup>3</sup>, la première ponte ayant été artificiellement retardée donne exclusivement des œufs durables.

rapide : les imagos sont obtenus les 2 et 3 mars, après seulement cinq à six jours de vie larvaire et nymphale. Deux femelles ( $a^1$  et  $a^2$ ) du lot obtenu sont isolées et suivies comparativement.

I. Femelle  $a^1$ . — Fait son premier repas de sang le 7 mars (quatrième jour). Après un seul repas de sang, la ponte survient le 12 mars (huitième jour) produisant une centaine d'œufs, qui sont *pour le plus grand nombre actifs*. 60 p. 100 d'entre eux éclosent spontanément et en masse dans l'eau pure le 15 (troisième jour). Un tiers à peine résistent à l'éclosion.

La même femelle, après avoir fait sa première ponte en condition *active* (après un unique repas de sang), est remise à piquer le 15 mars. Il lui faut cette fois une deuxième prise de sang pour être amenée à la deuxième ponte. Elle se gorge de sang pour la seconde fois le 20 et effectue sa deuxième ponte le 23 (cinquantaine d'œufs). On constate que les œufs de cette deuxième ponte sont *pour le plus grand nombre inactifs*. Sauf 6 d'entre eux qui éclosent spontanément le 26, tous les autres sont des œufs durables qui résistent à l'éclosion spontanée.

II. Femelle  $a^2$ . — Fait son premier repas de sang comme la précédente le 7 mars (quatrième jour). Après un seul repas de sang, la première ponte survient le 12 mars (huitième jour), produisant une soixantaine d'œufs *en majorité actifs*. 70 p. 100 environ d'entre eux éclosent spontanément en masse dans l'eau pure le 15. 12 œufs seulement résistent à l'éclosion.

La même femelle, après avoir fait sa première ponte en condition *active* (après un unique repas de sang), est remise à piquer le 15 mars. Comme la précédente, il lui faut cette fois un deuxième repas de sang, le 21, pour être en état de produire une deuxième ponte. Elle se gorge à nouveau le 21 et effectue sa deuxième ponte le 25, avec quarante-huit heures de retard sur la précédente. Les œufs de cette deuxième ponte sont *en majorité inactifs* : sur 51 œufs, 33 (70 p. 100) résistent à l'éclosion en eau pure; 16 seulement éclosent spontanément le 27.

On voit dans cette première expérience, dont les graphiques de la figure 7 font ressortir les résultats, que les deux femelles-sœurs,  $a^1$  et  $a^2$ , se sont comportées de manière identique. La condition active du début a permis une première ponte rapide formée en majorité d'œufs *actifs*, capables d'éclosion spontanée. Le vieillissement s'est traduit par un ralentissement manifeste de l'activité physiologique : augmentation du nombre des repas de sang nécessaires pour la production des œufs, ponte plus tardive. Il en est résulté la production de pontes profondément marquées au signe de l'inactivité. La proportion des œufs durables a été largement accrue avec l'âge des femelles.

*Effet du vieillissement avant la première ponte.* — Pour compléter les données de cette expérience, j'ai retardé artificiellement l'apparition de la première ponte chez une femelle-sœur des précédentes, en ne la mettant à même de faire ses premiers repas de sang que beaucoup plus tardivement. La première

ponte, effectuée plus tardivement par un organisme déjà prématurément vieilli, s'est montrée profondément marquée dans le sens de l'inactivité.

Femelle  $a^3$ . — Une troisième femelle active provenant du même lot tunisien issu d'œufs durables réactivés que les femelles  $a^1$  et  $a^2$  précédentes, éclore le même jour qu'elles, a été conservée alimentée de sucre jusqu'au 12 mars. Elle n'a pu faire son premier repas de sang que neuf jours après son éclosion, soit avec un retard de cinq jours sur les femelles  $a^1$  et  $a^2$ . Cette femelle a dû faire un deuxième repas de sang le 16, avant de parvenir à sa première ponte qui est survenue le 19, soit au quinzième jour seulement après l'éclosion. Cette ponte, en retard de sept jours sur celle du même rang des précédentes, s'est montrée constituée entièrement par des œufs inactifs. Un seul œuf a éclos le 22 après agitation, tous les autres œufs de la ponte ont résisté à l'éclosion spontanée.

On voit ainsi que la première ponte d'un lot de femelles actives peut être affectée d'inactivité si cette ponte est produite tardivement par une femelle qui n'a pu développer sa première émission d'œufs dans les délais habituels. La fatigue produite chez les femelles par une première ponte n'est donc pas nécessaire pour conférer aux œufs le caractère inactif. L'âge suffit à développer la surproduction des œufs durables. C'est ce que montre également l'expérience réalisée avec la femelle  $a^3$  de l'expérience D.

Femelle  $d^3$ . — Cette femelle fait partie d'un lot tunisien réactivé par détente hypothermique (voir ci-après). Tandis que deux femelles  $d^1$  et  $d^2$  du même lot ont pondu dans les délais respectifs de neuf à dix jours après l'éclosion, avec production de pontes nettement actives, la femelle  $d^3$  nourrie de sucre jusqu'au 2 mai n'a été amenée à la première ponte que huit jours plus tard. Ce retard d'une semaine sur les femelles précédentes a suffi pour conférer à la première ponte produite par cette femelle vieillie un caractère *totalelement inactif*.

Ces expériences qui font ressortir la disparition des œufs actifs des pontes sous l'action du vieillissement sont complétées par l'expérience F ci-après, qui a porté sur un nombre beaucoup plus important de moustiques, et sur des pontes massives, non sélectionnées par femelles.

EXPÉRIENCE F. — Des œufs durables de Tunisie, pondus le 23 novembre et conservés en état d'anhydrobiose pendant six mois, ont été appelés à l'éclosion le 25 mai et mis en élevage. Dans une eau renfermant une macération fraîche de stigmates de maïs, le développement est rapide à 25° C. et les pre-

miers imagos obtenus apparaissent le 5 juin. Une cinquantaine de moustiques, tant mâles que femelles, est obtenue.

La plupart des femelles sont gorgées de sang le 9 juin, quelques-unes antérieurement, le 7. Une première série de pontes est déposée du 11 au 15 juin en eau pure. Elle donne un total de 451 œufs. Dans les trois jours qui suivent, on voit éclore spontanément 208 larves, soit une proportion d'environ 46 p. 100 d'œufs *actifs* pour la première ponte.

Après cette première émission d'œufs, les femelles sont à nouveau gorgées de sang, le 15 juin. Le 23 juin a lieu une deuxième série de pontes qui compte 166 œufs. Dans les trois jours qui suivent, du 25 au 27, on voit éclore spontanément 29 larves, soit une proportion de 17,4 p. 100 d'œufs actifs, tout le reste de la ponte étant constitué par des œufs durables.

Ainsi, de 46 p. 100 à la première ponte, la proportion des œufs aptes à l'éclosion spontanée s'est abaissée à 17,4 p. 100 pour la deuxième ponte survenue dix jours plus tard. En avançant en âge, les femelles tendent donc à perdre la propriété de donner des œufs actifs. Les pontes évoluent vers le type inactif franc.

II. DISPARITION DES ŒUFS ACTIFS DES PONTES SOUS L'INFLUENCE DES ACTIONS TOXIQUES RALENTISSANTES DU DÉVELOPPEMENT LARVAIRE. — Nous avons montré plus haut comment le développement larvaire était affecté par les influences toxiques des excréta, accumulés dans les eaux où évoluent les larves; les larves ralenties donnent naissance à des individus qui par *vieillesse précoce* montrent une activité physiologique atténuée.

Cette atténuation de l'activité physiologique chez les femelles dont le jeune âge a été affecté d'un ralentissement évolutif accentué se traduit également par le caractère inactif de la ponte. Les femelles prématurément vieilles par les effets d'un développement difficile ne possèdent plus la propriété de donner naissance à des œufs aptes au développement spontané. Toutes leurs pontes présentent le caractère inactif, comme il ressort des expériences ci-après.

#### A. *Effets ralentissants du surpeuplement :*

EXPÉRIENCE B. — Des œufs durables de *Stegomyia* d'origine tunisienne provenant du même lot de ponte que ceux de l'expérience A ci-dessus sont placés en élevage à 25-28° C. dans une eau renfermant une macération fraîche de crottes de cobaye. Le nombre des larves étant élevé (50) dans une quantité d'eau de culture d'environ 1/4 de litre, la croissance des larves est notablement plus lente que celle des larves de l'expérience A. Les pre-



miers imagos n'apparaissent qu'au bout de treize jours, le 20 mars, au lieu de cinq à six jours pour la première expérience.

Les 3 premières femelles obtenues de cet élevage ralenti sont isolées après accouplement. Aucune n'est apte à la ponte après un seul repas de sang, comme celles de l'expérience A. Elles doivent toutes faire 2 repas de sang, l'un le 22, l'autre le 25 mars, avant d'être aptes à la ponte.

Les 3 pontes obtenues sont toutes les trois *inactives*. Aucun œuf apte à l'éclosion spontanée en eau pure n'est apparu dans ces pontes.

### B. Effets ralentissants d'un milieu surchargé en excreta toxiques par des développements antérieurs de larves :

EXPÉRIENCE I. — Des œufs durables, provenant directement des Indes Néerlandaises, sont placés en élevage à 28° C., le 29 octobre, dans une macération de stigmates de maïs ayant servi à deux développements antérieurs de larves de *Stegomyia* dans les mêmes conditions.

Le précédent développement qui avait comporté une vingtaine de larves avait donné en dix jours une femelle active dont la ponte, après un seul repas, renfermait 36 œufs à éclosion spontanée sur 64 pondus.

Le développement en eau usagée a permis d'obtenir en neuf jours deux femelles qui, isolées et suivies, donnèrent les résultats suivants :

Femelle I<sup>a</sup>. — Fait un premier repas de sang le 9 novembre, un deuxième repas le 16. La ponte survient le 21 : 107 œufs, dont *aucun n'est apte à l'éclosion spontanée*.

Femelle I<sup>a</sup>. — Fait un premier repas le 9 novembre, un deuxième repas le 12, un troisième le 14. La ponte survient le 16 (123 œufs). *Tous les œufs pondus sauf un sont inactifs*. Une seule éclosion spontanée a été constatée.

EXPÉRIENCE K. — 20 larves bataviennes, écloses le 21 novembre d'œufs durables réactivés au cinquième jour, sont placées ce jour en élevage dans une eau renfermant une macération fraîche de stigmates de maïs, tandis que 20 autres larves sont cultivées dans les mêmes conditions, mais dans une eau de culture ayant déjà servi à l'élevage d'une trentaine de larves antérieurement, du 7 au 17 novembre. Toutes les conditions concernant la quantité d'eau (200 c. c.), l'alimentation, la température, la forme des récipients utilisés sont semblables. La même nourriture fraîche a été donnée dans les deux cas. La croissance, dans les deux lots, se fait de manière apparemment identique. Les premières nymphes apparaissent le 28 novembre, les premières éclosions le 1<sup>er</sup> décembre, dans l'élevage en eau usagée comme dans la culture en eau fraîche.

Bien que les conditions physiologiques des femelles obtenues dans chaque lot puissent avoir été considérées comme semblables, on note cependant des différences notables entre elles. Trois femelles ont été suivies comparativement dans chaque lot :

*Lot en milieu de développement frais.* — L'ensemble des trois femelles a produit 180 œufs (1), après un nombre de repas variant de 1 à 3 au maxi-

(1) Une des femelles n'a pu se libérer entièrement de sa ponte. Elle a été sacrifiée après avoir émis 12 œufs, les ovaires renfermaient encore une charge ovulaire normale.

mum par femelle; sur ce nombre, 55 œufs, dans un délai de trois à cinq jours, ont éclos spontanément ou par excitation mécanique simple, dans l'eau pure. 125 œufs sont demeurés à l'état latent.

*Lot en milieu usagé.* — L'ensemble des trois femelles a produit 195 œufs après un nombre de repas de sang variant de 1 à 8 par femelle (1). Sur ce nombre d'œufs, 8 éclosions actives spontanées ou subactives seulement ont été constatées.

Ainsi, avec un nombre total de prises de sang plus du double du premier lot, la proportion des œufs durables a été infiniment supérieure dans le lot élevé en eau chargée des excréta d'un premier élevage que dans le second. La prédominance des œufs durables dans les pontes peut donc servir de réactif pour caractériser dans une certaine mesure les conditions défavorables du milieu de développement.

*C. Effets ralentissants des substances d'excrétions ajoutées au milieu de développement.* — 3 femelles ont été obtenues tardivement, après un mois environ de délai évolutif, l'une d'un lot d'élevage à la guanine (Exp. M.), l'autre d'un lot à l'ammoniaque et au carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100 (Exp. L.). Nous avons indiqué plus haut les effets retardants réalisés par ces substances qui ont provoqué l'avènement d'une diapause secondaire au 4<sup>e</sup> stade larvaire.

Ces 3 femelles, nées les 18 et 19 janvier, sont toutes issues d'un lot d'œufs durables réactivés qui a donné naissance, pour les individus à développement non ralenti, à une descendance active dont les pontes renferment en plus ou moins grand nombre des œufs à éclosion spontanée.

Deux de ces trois femelles, après accouplement, ont dû faire trois repas de sang les 21, 23, 26 janvier avant d'être aptes à la ponte.

Une première femelle pond le 31 janvier 60 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée.*

Une deuxième femelle pond le 1<sup>er</sup> février 58 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée.*

La troisième femelle a dû faire 6 repas de sang avant de pondre le 17 février 18 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée.*

(1) Une des femelles après 8 repas de sang a pondu 2 œufs le 28 décembre. Le reste de la ponte n'a pu être expulsé.

III. DISPARITION DES ŒUFS ACTIFS, PAR EFFETS DE FATIGUE CYCLIQUE, DANS LES PONTES DES GÉNÉRATIONS SURACTIVES ISSUES D'ŒUFS ACTIFS. RÉAPPARITION DES ŒUFS ACTIFS DANS LES PONTES DES GÉNÉRATIONS ISSUES DES ŒUFS DURABLES — Nous avons étudié plus haut les manifestations cycliques de fatigue ou dépression physiologique qui surviennent chez les femelles de *Stegomyia* à la suite du maintien continu des générations en condition de suractivité métabolique. Les femelles *actives*, douées de la propriété de donner rapidement naissance à des œufs après un seul repas de sang, ne transmettent pas cette propriété d'activité à leur descendance, lorsque celle-ci est maintenue à un degré thermique élevé. Parallèlement, on constate que la production des œufs actifs, aptes au développement spontané, rapide, suit les mêmes effets de fatigue héréditaire liée à la suractivité métabolique. Les expériences ci-après montrent, en effet, qu'il existe chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune un cycle véritable dans l'apparition des œufs actifs. Ce cycle se manifeste pour les générations qui sont placées dans des conditions *optima* d'activité évolutive de la façon suivante : *Les individus issus des œufs à développement spontané rapide ne donnent pas naissance à des œufs actifs, mais à des œufs durables. Les individus issus des œufs durables engendrent partiellement au moins des œufs actifs aptes au développement spontané.*

La reconnaissance de cette curieuse loi cyclique ressort de l'examen des données fournies par les expériences diverses développées ci-après.

A. *Les générations issues d'œufs actifs donnent des pontes inactives. Les générations issues des œufs durables engendrent des pontes actives.* — La femelle *a*<sup>1</sup> de l'expérience A, issue d'un œuf durable réactivé, a donné une ponte renfermant 60 p. 100 d'œufs actifs. Les larves issues sans arrêt par éclosion spontanée de ces œufs sont recueillies aussitôt après leur éclosion et constituent, en milieu d'élevage neuf, le lot de l'expérience C (Voir fig. 8).

EXPÉRIENCE C. — Ces larves évoluent à 25-28° C. comme la femelle-mère et en sept jours donnent des imagos.

Trois femelles de ce lot de larves qui a évolué sans passer par la phase d'arrêt de l'œuf durable sont isolées et suivies. Toutes les trois prennent un premier repas de sang le 24 mars, mais aucune n'est apte à la ponte après ce premier repas. Un deuxième et un troisième repas de sang, respective-

ment les 25 et 29 mars; sont nécessaires pour les amener à la ponte qui survient le 31. Dans ces trois pontes qui comptent un total de près de 200 œufs, tous les œufs produits sont inactifs. Aucune éclosion spontanée en eau pure n'a été obtenue.

Nous voyons donc dans cette première expérience que la suppression du temps d'arrêt de l'œuf durable a fait perdre à la

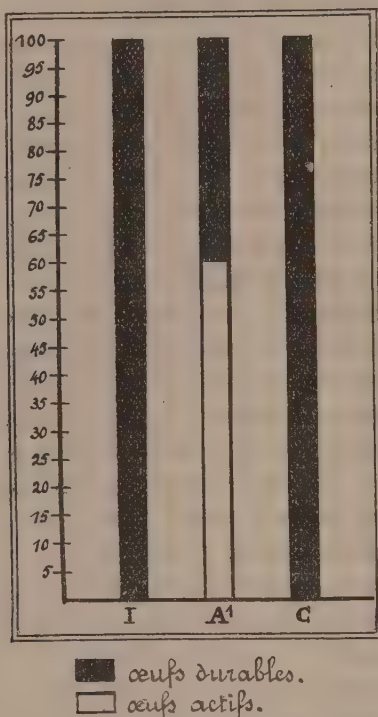


FIG. 8. — Effets de *fatigue cyclique* : Alternance dans la production des pontes inactives et des pontes actives au cours des générations. I. ponte durable d'une mère initiale. A', Femelle issue d'œuf durable : 60 p. 100 d'œufs actifs à la première ponte. C. Production exclusive d'œufs durables par 3 femelles descendantes issues des œufs actifs de A'.

génération-fille issue de femelle active la propriété de donner naissance à des œufs aptes à l'éclosion purement spontanée.

Dans la série d'expériences suivantes, nous allons voir ces phénomènes d'apparition et de réapparition cyclique des œufs actifs dans les pontes se succéder encore plus nettement comme conséquence de la présence ou de la suppression même du temps de repos dans l'œuf durable.



EXPÉRIENCE J. — PREMIER CYCLE : La femelle H<sup>1</sup> de l'expérience H (Batavia) issue d'un œuf durable réactivé a donné une ponte active dont le plus grand nombre des œufs (69,2 p. 100) sont aptes à l'éclosion spontanée.

Les larves issues de ces œufs *actifs*, écloses le 5 novembre, sont placées en milieu d'élevage neuf, après leur éclosion, et à la même température (25-28° C.) que la femelle-mère. Ces larves évoluent activement comme celles de la génération H et donnent des imagos à partir du 17 novembre.

Trois femelles sont isolées et suivies. Elles font un premier repas le 21 no-

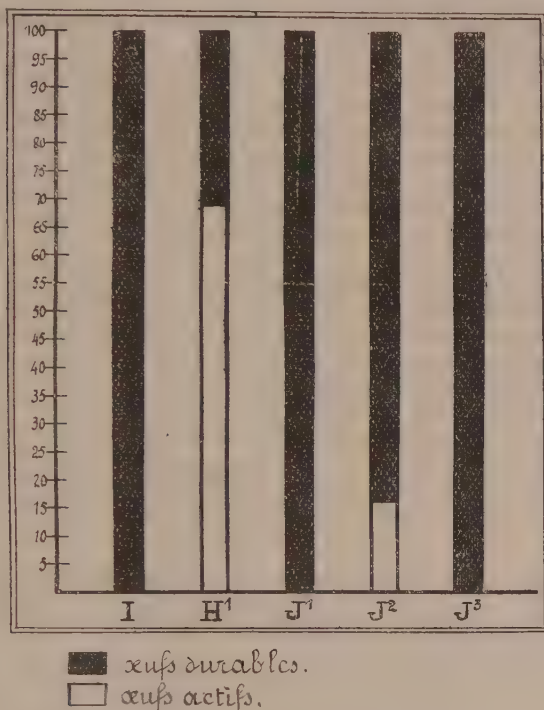


FIG. 9. — *Fatigue cyclique* : Alternance dans la production des pontes actives et des pontes inactives au cours de diverses générations (Exp. J.).

I, mère initiale : ponte d'œufs durables; H<sup>1</sup>, femelle descendante, issue d'un œuf durable : ponte active renfermant 70 p. 100 d'œufs actifs; J<sup>1</sup>, pontes uniquement formées d'œufs durables pour 3 femelles descendantes issues des œufs actifs de H<sup>1</sup>; J<sup>2</sup>, pontes actives donnant une moyenne de 15 p. 100 d'œufs actifs pour 2 femelles descendantes, issues d'œufs durables de J<sup>1</sup>; J<sup>3</sup>, pontes uniquement formées d'œufs durables pour 3 femelles issues des œufs actifs de J<sup>2</sup>.

vembre, mais aucune n'est apte à la ponte après un seul repas. Deux d'entre elles effectuent leur ponte après trois repas de sang. Le troisième doit faire une quatrième prise de sang le 1<sup>er</sup> décembre avant de parvenir à la ponte.

Ces trois femelles font toutes des pontes maigres, ne renfermant qu'un

petit nombre d'œufs (de 10 à 33 œufs) qui ont *tous le caractère inactif*. Aucune éclosion spontanée en eau pure n'a été observée (1).

**DEUXIÈME CYCLE :** Les œufs inactifs d'une de ces femelles ayant pondu 33 œufs le 30 novembre sont réactivés par eau souillée le 20 décembre, après un délai de latence de ces œufs d'environ trois semaines à température du laboratoire. L'élevage nouveau du deuxième cycle est reporté à 25-28° C. Les premières femelles sont obtenues le 28 décembre (huit jours). Deux d'entre elles sont isolées et suivies (J<sup>2</sup>).

Une des femelles fait un repas de sang le 29. Après cette unique prise de sang, elle pond 60 œufs, le 1<sup>er</sup> janvier, sur lesquels 8 éclosent spontanément, soit une proportion de 18,3 p. 100 d'œufs actifs.

La deuxième femelle doit faire trois repas de sang (les 29 décembre, 4 et 7 janvier) avant d'être amenée à la ponte. Elle fait le 10 janvier une ponte de 74 œufs, sur lesquels 14, soit 18,9 p. 100, sont aptes à l'éclosion spontanée.

Les larves issues sans temps d'arrêt de l'éclosion des œufs actifs de la première femelle J<sup>2</sup> sont placées après l'éclosion, le 5 janvier, en milieu d'élevage neuf, à la même température élevée (25-28° C.). Les premières femelles de cet élevage rapide apparaissent les 13 et 14 janvier, après huit et neuf jours d'évolution.

Trois femelles de cet élevage accéléré sont isolées et suivies. Ces femelles (J<sup>3</sup>) provenant d'une génération surmenée doivent faire 5 repas de sang avant de parvenir à la ponte. La première femelle ayant fait son cinquième repas de sang le 23 janvier dépose le 27 une ponte de 62 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée immédiate* (2).

La deuxième femelle qui a fait son cinquième repas de sang le 23 janvier pond également, le 27, 45 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée immédiate*.

La troisième femelle qui a fait son cinquième repas de sang le 25 janvier, pond, le 30, 58 œufs. *Tous ces œufs sont inaptes à l'éclosion spontanée*.

La succession cyclique dans l'apparition et la disparition des œufs aptes à éclore spontanément est exprimée par les graphiques des figures 7 et 8.

Ces observations confirment que l'apparition exclusive des œufs durables dans la ponte correspond normalement, pour des moustiques ayant évolué dans des conditions d'activité optima, à une sorte d'épuisement ou de fatigue. Nous voyons par là que l'activité physiologique des femelles de *Stegomyia*, dont la production des œufs actifs est un témoin fidèle, ne peut se maintenir indéfiniment d'une façon continue, de générations en générations.

(1) Dans un lot d'une dizaine de femelles de la même série, une ponte de 300 œufs environ a été obtenue sur lesquels une seule éclosion spontanée ou subsponnée s'est produite.

(2) Ces œufs ont répondu dans la proportion de 1/6 à l'excitation mécanique, par éclosion rapide le troisième jour.

La fatigue survient chez les générations-filles, traduite entre autres phénomènes par la production exclusive d'œufs inaptes à un développement spontané.

L'œuf durable intervient donc, conformément aux prévisions que nous avons déjà formulées dans un précédent travail, comme un élément indispensable pour la régulation du cycle physiologique de l'espèce. La suppression de la phase de repos que comporte l'asthénobiose larvaire, dans l'œuf durable, ne permet pas le maintien continu de l'activité biologique maxima. Lorsque cette phase est sautée, pour les générations issues d'œufs actifs, la fatigue physiologique survient rapidement qui entraîne une surproduction compensatrice d'œufs inactifs.

Ainsi, l'évolution du moustique de la fièvre jaune et des *Aédines*, en général, nous apparaît comme comportant naturellement des phases successives de suractivité biologique et d'asthénie compensatrice. Ils constituent donc des organismes *hétérodynames*, au sens que nous avons attaché à ce terme, et leurs phases ou cycles d'asthénie succédant régulièrement aux périodes d'activité métabolique plénière sont à rapprocher étroitement des phases régulières analogues que nous avons fait connaître chez plusieurs types d'insectes. Il convient seulement de remarquer que chez le *Stegomyia* au moins les phases ne sont pas aussi rigoureusement tranchées que chez d'autres formes, parce que la production des œufs *actifs* dans la phase active n'est jamais, ou pour ainsi dire jamais, absolument totale et qu'aux pontes actives se joignent des œufs plus ou moins affectés d'un caractère d'inertie.

Il ressort des données diverses que nous avons exposées que, dans le cycle normal de l'espèce, l'œuf durable correspond en grande partie à un état de dépression ou de fatigue hérité d'une suractivité antérieure et que cette phase de repos obligatoire offerte à la larve épuisée, au début de son entrée en développement, est utile pour sa réactivation physiologique. Les constatations ultérieures permettront de compléter ces différentes notions.

*B. Importance de la durée de latence de l'œuf durable sur le degré de réactivation des femelles qui en procèdent.* — Les expériences ont permis de reconnaître que non seulement le

temps d'arrêt de l'œuf durable est nécessaire pour conférer aux femelles qui en procèdent un certain degré d'activité qui se caractérise par la production d'œufs *actifs*, mais encore que la proportion relative des œufs actifs présents dans les pontes normales est d'autant plus grande que la durée de la période de latence des œufs a été plus prolongée.

Par exemple la femelle H<sup>1</sup> de l'expérience H procède d'œufs durables en provenance directe de Batavia, qui ont été conservés d'août en octobre, soit avec une latence de plus de deux mois. Cette femelle a fourni une ponte renfermant 69,2 p. 100 d'œufs actifs.

De même, les femelles actives a<sup>1</sup>, a<sup>2</sup> de l'expérience A (Tunisiennes) procèdent d'œufs durables dont la période de latence a duré de novembre à fin février, soit trois mois environ. Ces femelles ont fourni des pontes renfermant, pour l'une 60 p. 100, pour l'autre 70 p. 100 d'œufs actifs, aptes au développement spontané immédiat.

Par contre, dans les expériences suivantes où le délai de latence initiale permis à l'œuf durable a été beaucoup plus court, la proportion des œufs actifs pondus a toujours été beaucoup plus faible.

Ainsi, dans l'expérience K, des œufs réactivés le cinquième jour seulement après la ponte, en présence d'eau souillée, donnent, dans des conditions d'élevage normales, trois femelles. Sur ces trois femelles issues d'œufs durables réactivés très tôt, l'une produit une ponte entièrement inactive. Les deux autres ne produisent qu'un très petit nombre d'œufs aptes à l'éclosion spontanée proprement dite : 5 pour l'une, 4 pour l'autre.

De même, dans l'expérience J (deuxième cycle) des œufs du 4 décembre, réactivés après un temps de latence de onze jours seulement, ont donné naissance, dans des conditions d'élevage normales, à deux femelles : l'une J<sup>2</sup> a produit une ponte renfermant 13,3 p. 100 d'œufs actifs, l'autre une ponte à 18,9 p. 100 d'œufs aptes à l'éclosion spontanée immédiate.

Ainsi, lorsque l'œuf durable est réactivé d'une façon précoce, après un temps de latence de faible durée, les individus qui en procèdent, lorsqu'il s'agit de femelles, sont insuffisamment réactivés pour donner naissance, lors de leur première ponte, dans les meilleures conditions de développement possible, à une forte proportion d'œufs capables d'éclore spontanément.

Il apparaît donc que la période de repos imposée à l'espèce au cours de la phase d'inertie de l'œuf est nécessaire pour réintégrer les individus dans leur degré d'activité métabolique maximum.

C. *L'activité peut être conservée chez les descendants des*



fémmelles actives, lorsque leur développement s'est fait à température d'activité biologique restreinte (*hypothermobiose*). L'inactivité reparait chez les descendants de fémmelles actives lorsque le développement est ramené à température élevée. — Les constatations qui vont suivre permettent de confirmer que l'apparition normale des pontes entièrement formée d'œufs durables

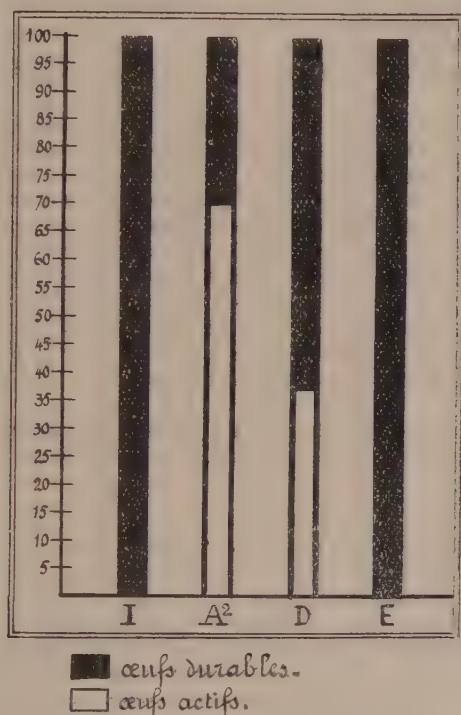


FIG. 10. — Action de la détente hypothermique sur le maintien des pontes actives dans les générations issues de pontes actives (souche de *Stegomyia tunisienne*, Exp. D.).

I, mère initiale à ponte inactive; A², femelle descendante issue d'un œuf durable: ponte active renfermant 70 p. 100 d'œufs actifs; D, pontes actives (moyenne de 38 p. 100 d'œufs actifs) pour 2 femelles issues des œufs actifs de A², développées à basse température (détente hypothermique réactivante); E, pontes inactives pour 3 femelles descendant des œufs actifs de D, ramenées à température élevée.

(pontes inactives) est une conséquence cyclique d'un état de fatigue imposé aux générations de l'insecte par un développement continu à température élevée. Nous allons montrer, en effet, que si l'on défend les femelles contre ces effets de fatigue

en leur permettant un développement plus lent, à température inférieure à l'optimum d'activité, elles peuvent conserver la propriété de donner des œufs actifs, quoique issues d'œufs éclos spontanément sans arrêt. Cette propriété disparaît à nouveau si les descendants sont replacés à haute température d'activité.

Ces expériences sont le complément nécessaire des expériences C et J ci-dessus.

*Action réactivante de la détente hypothermique :*

EXPÉRIENCE D. — Des œufs actifs, issus de la femelle active  $a^2$ , de l'expérience A, ont donné des larves par éclosion spontanée le 27 mars. Ces larves sont mises en élevage dans une eau de culture neuve, mais au lieu d'être éduquées, comme les précédentes de l'expérience C, à la température élevée des parents, qui a donné des individus inactifs, elles sont placées à une température de détente, inférieure à  $18^\circ$  C. (moyenne de  $16^\circ$  C.).

La croissance de ces larves est relativement lente et nécessite environ trois semaines. Les premiers imagos apparaissent du 20 au 21 avril. Deux femelles sont isolées et suivies à température de  $25-28^\circ$  C.

La femelle D<sup>1</sup> fait 3 prises de sang les 21, 25, 29 avril et pond le 30. Sur 43 œufs pondus, 25 éclosent spontanément le 4 mai, soit 55 p. 100 d'œufs actifs.

La femelle D<sup>2</sup> fait 3 prises de sang les 21, 25 et 27 avril et pond le 1<sup>er</sup> mai. Sur 40 œufs pondus, 8 éclosent spontanément le 5 mai, soit 20 p. 100 d'œufs actifs.

*Action inactivante de la température élevée :*

EXPÉRIENCE E. — Les œufs actifs de deuxième génération obtenus des femelles D<sup>1</sup>, D<sup>2</sup> précédentes, développées à faible température, ont donné à  $25-23^\circ$  C. des larves dont le développement est poursuivi à cette même température optima d'activité, en eau de culture fraîche. Les imagos obtenus en dix jours de cette deuxième génération d'œufs actifs, bien qu'obtenus à la chaleur, sont caractérisés par une allure débile, apparente surtout chez les mâles : ils se déplacent en sautillant et sont inaptes à un vol soutenu. Trois femelles sont isolées et suivies.

Femelle E<sup>1</sup>, éclore le 14 mai, doit faire 4 repas de sang successifs avant la ponte, les 15, 17, 18 et 19 mai. Ponte le 22. Tous les œufs obtenus sont inactifs.

Femelle E<sup>2</sup>, éclore le 14 mai, doit faire 3 repas de sang successifs avant la ponte, les 15, 17, 18 mai. Ponte le 23. Tous les œufs obtenus sont inactifs.

Femelle E<sup>3</sup>, éclore le 14 mai, conservée nourrie au sucre jusqu'au 25, nourrie de sang le 25 mai, ponte le 28. Tous les œufs obtenus sont inactifs.

Les graphiques de la figure 10 font ressortir les conditions d'activité relatives des différentes pontes pour l'ensemble des Expériences D et E. On saisit tout de suite, par comparaison avec les graphiques des figures 8 et 9, les effets de la détente hypother-

mique sur la conservation de l'activité des pontes. Les mêmes résultats apparaissent dans le groupe suivant des Expériences J<sup>4</sup> et J<sup>5</sup>.

*Action réactivante de la détente hypothermique :*

EXPÉRIENCE J<sup>4</sup>. — Tandis qu'une partie des larves écloses activement de la femelle H, de Batavia, a été placée en élevage à 25-28° C. donnant des imagos

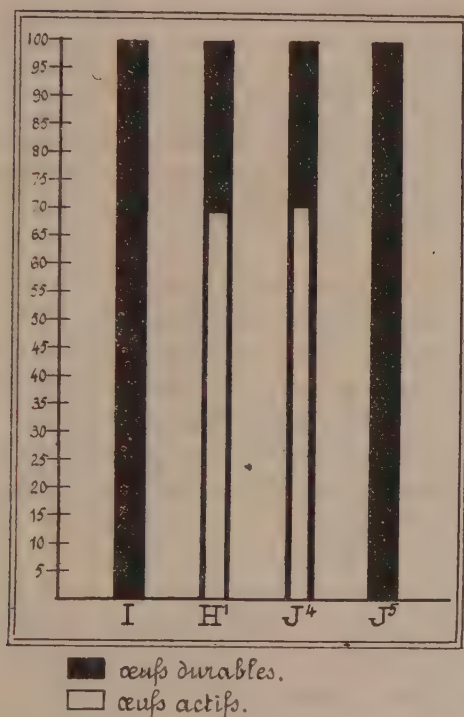


Fig. 11. — Action de la détente hypothermique sur le maintien des pontes actives (souche de *Stegomyia javanaise*, Exp. J<sup>4</sup> et J<sup>5</sup>).

I, mère initiale à ponte inactive; H<sup>1</sup>, femelle descendante, issue d'œufs durables de I: ponte active renfermant 69 p. 100 d'œufs actifs; J<sup>4</sup>, ponte active (70 p. 100 d'œufs actifs) pour 1 femelle issue d'œuf actif de H<sup>1</sup>, développée à basse température (détente hypothermique réactivante); J<sup>5</sup>, pontes inactives pour 2 femelles descendant des œufs actifs de J<sup>4</sup> ramenées à température élevée.

à caractère inactif (voir plus haut expérience J<sup>1</sup>), une autre partie de ces larves est placée, également le 5 novembre, en eau de culture fraîche, mais à température de détente hypothermique, inférieure à 18° C. (voisine de 15° C.).

Le développement de ces larves est assez pénible, et vers le 22 novembre une mortalité importante se fait sentir dans l'élevage. Une seule femelle est

obtenue le 29, après une durée totale de développement de vingt-quatre jours. Cette femelle née après un développement ralenti à basse température est alors replacée à 25-28° C. Elle fait 1 repas de sang le 30 et un deuxième le 1<sup>er</sup> décembre. La ponte survient le 4 décembre. Sur 69 œufs pondus, 48 éclosent spontanément dans un délai de trois à cinq jours, soit environ 70 p. 100 d'œufs actifs.

### *Action inactivante de la température élevée :*

EXPÉRIENCE J<sup>a</sup>. — Des œufs de la femelle ci-dessus, femelle réactivée par un développement larvaire à basse température, sont mis en culture le 15 décembre, à température d'activité intense (28° C.). Les premières femelles sont obtenues de cet élevage à haute température le 28 décembre. Deux d'entre elles sont isolées après accouplement et suivies. Ces deux femelles sont toutes deux ralenties. Elles doivent faire chacune trois repas de sang, respectivement le 30 décembre, 2 et 4 janvier avant d'être aptes à la ponte. Celle-ci survient pour les deux moustiques le 8 janvier, donnant 68 œufs pour l'un, 54 œufs pour l'autre. *Tous les œufs obtenus sont inactifs.*

Ainsi nous voyons, par ces expériences, que le maintien indéfini d'un cycle évolutif accéléré, à la température d'activité optima du moustique, est impossible. Les générations de l'*Aedes argenteus* ne peuvent pas se succéder indéfiniment sans arrêt aux moyennes thermiques élevées qui correspondent à son optimum habituel (25-30°). Rapidement, dès la seconde génération, le cycle se trouve interrompu par l'apparition prédominante des œufs durables qui correspond à un arrêt obligatoire dans l'activité évolutive de l'espèce. Cet arrêt obligatoire, expression même de l'état de surmenage physiologique qu'entraîne une évolution rapide continue, peut, à vrai dire, être combattu, au moins partiellement, par les effets réactivants de l'hypothermobiologie agissant au cours du développement. Le développement ralenti des larves, à une température inférieure à la limite d'activité normale des moustiques adultes (20° C.), exerce une détente salutaire qui permet la reprise, au moins partielle, de l'activité des pontes.

Il est intéressant de retrouver ici les effets habituels de la réactivation par le froid des insectes hétérodynamiques. Mais, pratiquement, dans la nature, ces effets semblent plutôt d'importance secondaire parce que les basses températures, si elles peuvent réactiver les larves, sont défavorables à la reproduction des adultes. On sait que le moustique de la fièvre jaune n'est véritablement apte à s'accoupler et à se reproduire qu'au-



dessus de la limite de 20° C. comme moyenne courante. Le véritable mode de réactivation de l'espèce paraît s'accomplir par la voie des œufs durables.

IV. DISPARITION DES ŒUFS ACTIFS DES PONTES PAR RÉTENTION NATURELLE OU PROVOQUÉE DES OVULES DANS LES OVAIRES. ACTION TOXIQUE OU INHIBITRICE DE L'ORGANISME MATERNEL SUR LES ŒUFS. — Toutes les observations et expériences qui précèdent amènent à la notion que les œufs durables sont le produit d'une action toxique de l'organisme maternel sur les ovules avant la ponte. L'œuf surchargé par ces actions toxiques présente un développement embryonnaire normal, mais la larve asthénique qui en procède subit un arrêt évolutif obligatoire à l'intérieur de l'œuf.

On peut démontrer directement que c'est bien le milieu intérieur maternel lui-même qui exerce une influence inhibitrice sur les ovules d'où procède l'inactivité ultérieure de l'œuf durable. Les observations et expériences ci-après montrent en effet que le séjour prolongé des ovules dans les gaines ovariennes avant la ponte confère aux œufs formés le caractère durable, alors qu'une expulsion rapide des œufs leur conserve, lorsque les conditions physiologiques maternelles s'y prêtent, l'activité de développement spontané. Les phénomènes sont ici calqués sur ceux que nous avons exposés pour les Phlébotomes (1928), chez lesquels nous voyons la larve hivernante résulter d'un développement retardé par rétention des œufs dans les ovaires.

1. *Influence du rang dans la ponte sur le caractère physiologique de l'œuf.* Les premiers œufs pondus, dans les pontes mixtes, sont des œufs actifs, les derniers des œufs inactifs. — Il arrive fréquemment, comme on a pu le voir dans les expériences précitées, que les pontes du moustique de la fièvre jaune sont mixtes, c'est-à-dire renferment en proportion variable des œufs aptes à l'éclosion rapide spontanée, et des œufs inactifs ou durables. La présence des deux types d'œufs, dans une même ponte, ne peut s'expliquer que par l'insuffisance ou l'inégalité de l'action toxique maternelle sur les différents œufs d'un même lot de ponte. Les œufs qui occupent dans les ovaires la position la plus voisine des voies d'évacuation et qui sont expulsés les premiers supportent d'une façon moins prolongée et moins

intense les influences inhibitrices du milieu maternel ; ils conservent à peu près intacte leur activité évolutive et les larves primaires qui en procèdent sont plus ou moins aptes à l'éclosion spontanée. Les œufs qui occupent au contraire la position la plus éloignée des oviductes et qui sont expulsés, par suite, plus tardivement subissent d'une façon plus profonde l'action toxique interne du milieu maternel et donnent des larves inactives.

Les observations suivantes montrent que cette manière de voir est exacte.

A. Une femelle originaire d'œufs durables de Batavia est isolée pour la ponte en eau pure après trois repas de sang, le 16 novembre. Elle dépose ce jour une ponte de 123 œufs de couleur blanche. Au bout d'une demi-heure après la ponte, les premiers œufs pondus commencent à prendre la coloration noire définitive, ce qui permet de les distinguer.

10 de ces premiers œufs pondus sont aussitôt recueillis au hasard et placés à part dans un récipient rempli d'eau pure. Le 20 (quatrième jour) on observe une éclosion spontanée pour un de ces œufs, tandis qu'aucune éclosion n'est constatée dans le lot renfermant les œufs plus tardivement pondus. Le 21 (cinquième jour) les deux récipients sont soumis à une légère agitation. On constate en quelques instants l'échappement de 2 larves dans le lot des premiers œufs pondus, ce qui donne une proportion de 30 p. 100 d'éclosions spontanées ou subspontanées dans ce lot. Dans le lot qui renferme les œufs pondus les plus tardivement, 19 larves, soit 16,8 p. 100 seulement, éclosent par agitation, aucune n'écloît spontanément.

La proportion des œufs actifs et subactifs a donc été notablement plus forte dans le petit lot des œufs les premiers pondus, que dans le lot qui renferme la masse générale de la ponte.

Il convient de noter que, dans cette expérience, les œufs les premiers pondus n'ont été isolés qu'au hasard, sans que leur rang réel de ponte soit connu.

B. Une femelle originaire d'œufs de Batavia et sœur de la précédente écloît le 7 novembre. Elle fait un premier repas de sang le 9. Isolée le 12 pour la ponte en eau pure, elle fait le 14 novembre une petite ponte partielle réduite à 3 œufs.

La femelle est alors retirée du récipient de ponte et accepte une nouvelle prise de sang le 16. Isolée à nouveau en eau pure elle fait le 21 une ponte abondante de 107 œufs.

Les deux groupes d'œufs, ainsi obtenus à intervalle de six jours, sont suivis à l'étuve à 25-28° C. Les 18 et 20 novembre, deux larves sur trois éclosent spontanément dans le groupe des 3 œufs les premiers pondus. Au contraire, dans le lot des 107 œufs pondus ultérieurement, aucune éclosion n'est constatée dans les délais de cinq à six jours après la ponte, ni plus tardivement.

On voit par cette dernière observation que les femelles de *Stegomyia* ne mûrissent pas tous les œufs d'une même ponte au

même moment. Certains d'entre eux sont formés plus rapidement que les autres et, s'ils sont expulsés rapidement, ils échappent aux influences toxiques maternelles inhibitrices du développement larvaire. Celles-ci impressionnent d'autant plus les œufs que leur séjour dans l'abdomen maternel est plus prolongé; de là la présence fréquente des deux types physiologiques d'œuf dans une même ponte.

Les expériences ci-après confirment à nouveau ce point de vue en montrant que la rétention prolongée obligatoire des œufs dans l'organisme maternel, réalisée expérimentalement par un retard provoqué dans la ponte, imprime à cette dernière un caractère inactif total.

II. *Les pontes retardées renferment une proportion d'œufs durables d'autant plus forte que le séjour des ovules dans l'organisme maternel a été plus prolongé.* — Le retard dans la formation des œufs et dans l'apparition de la ponte peut être, chez les femelles de *Culicidés*, réalisé de deux manières : 1° en retardant le moment des prises de sang nécessaires; 2° en empêchant les femelles, pendant un certain temps, de déposer leurs œufs, par une suppression momentanée des gîtes de ponte favorables. J'ai utilisé ces deux moyens expérimentaux pour étudier l'effet sur la ponte, chez les femelles de *Stegomyia*, d'une rétention anormale des ovules dans l'organisme maternel.

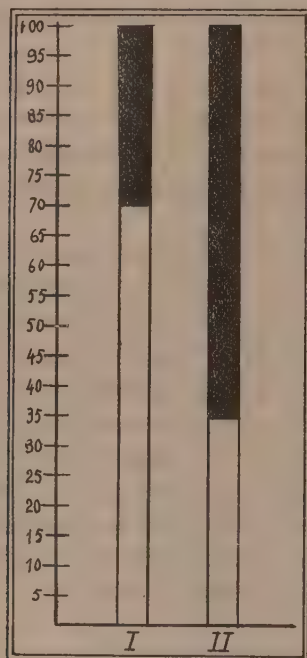
a) *Prise de sang retardée.* — En conservant pendant un certain temps des femelles alimentées de sucre, sans leur permettre de se gorger de sang, on peut retarder aussi longtemps qu'on le désire la maturation des œufs et l'avènement de la ponte. Nous avons déjà indiqué précédemment (Expérience A, femelle a<sup>2</sup>, expérience D femelle d<sup>2</sup>) les effets, chez des femelles normalement actives, d'un retard de sept à huit jours dans le moment normal d'apparition de la première ponte. Les pontes produites par des ovules qui ont séjourné longtemps chez un organisme vieilli sont des pontes inactives.

b) *Retard artificiel de la ponte par empêchement de celle-ci.* — En éloignant pendant un certain temps des récipients de ponte, les femelles mûres et aptes à déposer leurs œufs, on provoque aisément une stagnation anormale des œufs mûrs dans les voies ovariennes; c'est-à-dire que l'on favorise ainsi une action plus prolongée, sur les œufs, des éléments toxiques du métabolisme maternel. Les expériences suivantes montrent que plus cette rétention anormale des ovules dans les ovaires a été prolongée, plus les pontes ont le caractère inactif.

EXPÉRIENCE G. — Des larves provenant d'œufs éclos le 31 mai se développent activement en milieu neuf de culture, à 25-28° C., et les premiers imagos apparaissent le 7 juin. Les femelles prennent des repas de sang les 15, 17,

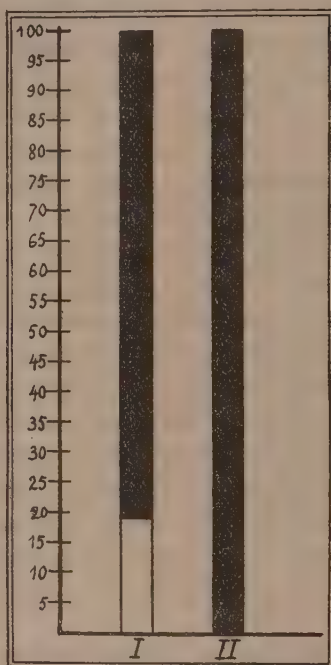
18 juin et les premières pontes sont déposées le 21 en eau pure. Elles produisent un total de 358 œufs. Dans les trois jours qui suivent, on note 250 éclosions spontanées, soit près de 70 p. 100 d'œufs *actifs* dans ce premier lot de ponte.

Le vase de ponte est ensuite retiré pendant vingt-quatre heures et remis le 22 juin. Une nouvelle ponte de 83 œufs est encore recueillie. Dans ce



■ œufs durables  
□ œufs actifs

FIG. 12.



■ œufs durables  
□ œufs actifs

FIG. 13.

FIG. 12. — Effets de la rétention des pontes chez les femelles, sur la production des œufs durables. Exp. G.

I, ponte normale à 70 p. 100 d'œufs actifs; II, ponte retardée de vingt-quatre heures : réduction à 34,9 p. 100 des œufs actifs.

FIG. 13. — Effets de la rétention des œufs chez les femelles sur la production des œufs durables. Exp. H.

I, pontes normales renfermant 19 p. 100 d'œufs actifs; II, pontes après un retard de quinze jours : disparition complète des œufs actifs.

deuxième lot, 29 éclosions spontanées seulement sont constatées, soit une proportion de 34,9 p. 100 d'œufs actifs, environ de moitié moindre que pour le lot précécent. Un retard de quelques heures dans la ponte a donc suffi pour doubler la proportion des œufs durables, inaptes à l'éclosion spontanée (fig. 12).



EXPÉRIENCE H. — Des *Stegomyia* tunisiennes provenant d'un élevage massif qui a produit plusieurs pontes sont à nouveau gorgées de sang les 5, 7 et 9 juin. Le 11 juin, une série de pontes de 170 œufs est déposée en eau pure.

On retire alors le récipient de ponte pour retarder l'évacuation des œufs chez les femelles n'ayant pas encore pondu.

Le 26 juin, après un délai de quinze jours, le récipient d'eau pure est remplacé dans la cage et les 26 et 27 juin un total de 405 œufs sont déposés par les femelles retardées.

Des 170 œufs du premier lot, évacués sans délai anormal, 32, soit environ 19 p. 100, éclosent spontanément les 15 et 16 juin. Dans le deuxième lot, artificiellement retardé, aucune éclosion spontanée dans l'eau pure ne se produit. La totalité des œufs sont des œufs durables, inaptes à l'éclosion spontanée (fig. 13).

Ainsi, la rétention prolongée des œufs mûrs dans l'organisme du moustique mère produit sur ces derniers des effets inhibiteurs qui se traduiront par l'asthénobiose de la larve primaire et l'inaptitude de cette larve à l'éclosion par ses propres moyens.

Comme le temps de rétention des œufs avant la ponte par les femelles est essentiellement variable suivant les circonstances, mais qu'il dépend avant tout de la raréfaction et de l'éloignement des gîtes de ponte, il s'ensuit que toutes les mesures propres à rendre plus difficile aux femelles l'accès des eaux propices pour le dépôt de leurs œufs pourront contribuer à la production des œufs inactifs ou durables.

#### CONCLUSIONS.

LES ŒUFS DURABLES SONT DES ŒUFS EN CONDITION DE SURCHARGE TOXIQUE, HÉRITÉE DE L'ORGANISME MATÉRIEL. CES EFFETS TOXIQUES SE TRADUISENT PAR LE BLOCAGE TARDIF POST-EMBRYONNAIRE, OU L'ASTHÉNOBIOSE DE LA LARVE PRIMAIRE. — Les développements qui précèdent nous ont donc amené à comprendre la nature et la raison physiologique de l'apparition des œufs durables dans le cycle biologique du *Stegomyia* de la fièvre jaune. Les notions que nous avons déduites seront d'ailleurs valables pour le groupe tout entier des *Aëdines*; elles permettent de se représenter les raisons des particularités d'éclosion singulières qui caractérisent ce type curieux de moustiques.

Nous voyons que l'œuf durable ou latent des *Aëdines*, apte à résister pendant des mois à l'éclosion et à conserver sa vitalité d'une saison à l'autre, voire d'une année à l'autre, est un œuf

renfermant une larve en *asthénobiose*, inapte par elle-même à reprendre la vie active si elle n'y est pas amenée par un excitant ou stimulant approprié.

Les raisons qui provoquent l'état d'asthénie ou de dépression nerveuse de cette larve primaire sont essentiellement des raisons d'intoxication spécifique émanant de l'organisme maternel. L'œuf durable est un œuf qui a été intoxiqué par les excréta de l'activité métabolique maternelle, dans le cours de son développement.

Nous avons vu que cet état d'intoxication n'entraîne pas immédiatement, comme dans les œufs *bloqués* d'oursins ou de batraciens, le développement primaire. L'ovule du *Stegomyia* qui a été imprégné dans le corps de la mère par des éléments toxiques de surcharge n'en fournit pas moins, une fois fécondé, un développement sans arrêt.

Les effets toxiques inhibiteurs ne se font sentir qu'après le développement embryonnaire achevé; ils se traduisent essentiellement chez la larve primaire qui a hérité de ce patrimoine d'intoxication, par une asthénie spécifique, une dépression nerveuse paralysant les mouvements nécessaires de l'éclosion. Il faudra, pour que cette larve en asthénobiose soit rappelée à l'activité et triomphe de sa torpeur, que des *réactivants* ou excitants particuliers, soit brusques, soit prolongés, agissent sur elle.

Les tares d'intoxication initiale sont donc acquises avant la fécondation par l'ovule, soit au cours de sa croissance dans les gaines ovariennes, même chez la larve, soit lorsqu'il est mûr et apte à être évacué. Nos différentes expériences répondent à ces deux circonstances, puisque nous avons vu l'intoxication inhibitrice se manifester soit en retardant la maturation ovulaire [Expériences A ( $a^s$ ), D ( $d^s$ )], soit en retardant l'évacuation de l'œuf mûr.

Les effets inhibiteurs toxiques impressionnent vraisemblablement l'ovule en cours de croissance à tous stades et lui confèrent une tare d'inertie qui se manifestera ultérieurement. Ces actions toxiques sont manifestement liées aux substances dérivées du métabolisme maternel lui-même, excréta de surcharge qui encombrant cet organisme. Nous voyons en effet que le *vieillessement* est un des premiers éléments de la sura-

bondance des œufs durables dans les pontes des femelles. De même nous voyons ces œufs latents augmenter dans les pontes sous l'influence d'une surcharge héréditaire dérivée de l'hyperactivité métabolique des générations ascendantes. Chez les descendants de femelles actives, la tare toxique s'enregistre pour se manifester héréditairement sur leur propre descendance. En vertu des curieux phénomènes de *fatigue cyclique* que nous avons mis en évidence, la troisième génération issue de l'activité métabolique intense des deux générations antérieures voit son développement initial suspendu. C'est elle qui supporte le poids de l'hérédité de surcharge, latente ou inapparente chez les deux autres.

Nous voyons enfin que ces actions toxiques du milieu intérieur des femelles peuvent être développées et accrues par des effets toxiques extérieurs agissant sur les larves au cours du développement. Soit qu'il s'agisse des excréta même d'un développement antérieur rejetés dans le liquide où s'effectue l'évolution larvaire, soit que ces actions toxiques aient leur origine dans l'activité de fermentation des microorganismes environnants ou de l'activité métabolique des autres occupants du milieu, les effets toxiques s'enregistrent dans l'organisme des larves. Ils confèrent aux imagos qui en dérivent des tares de fatigue ou de vieillissement prématuré qui influent sur leur descendance en rendant celle-ci incapable de poursuivre son développement sans arrêt.

L'étude des particularités d'évolution du *Stegomyia* apporte, comme on le voit, une confirmation précieuse à nos conceptions relatives à la vie latente et aux phénomènes de l'asthénobiose chez les insectes. Nous retrouvons ici, développés et contrôlés, tous les éléments essentiels de ces conceptions.

Quelle peut être la nature de ces éléments toxiques qui, en surcharge dans l'organisme matériel des moustiques, impressionnent la descendance d'une façon si spéciale? Tout ce que nous avons exposé montre qu'il ne peut s'agir que des excréta ordinaires du métabolisme. Les dérivés uriques semblent peu importants chez les moustiques; mais, par contre, la guanine semble, par sa constance et son abondance chez les mouches et les moustiques, jouer un rôle au moins aussi important que l'acide urique. L'expérimentation directe du rôle inhibiteur

toxique de ces substances est évidemment bien difficile à réaliser chez son moustique. Cependant l'expérience nous a montré que la guanine donnée en injection aux larves du *Stegomyia* exerce une influence ralentissante manifeste sur leur développement, en provoquant l'avènement d'un nouvel arrêt du développement, d'une *diapause secondaire*. L'ammoniaque, le carbonale d'ammoniaque agissent de la même manière. On est donc amené à penser que la *diapause primaire*, celle qui affecte la larve dans l'œuf durable, résulte d'influences analogues. Ce sont les excréta azotés de surcharge, dérivés d'un métabolisme suractif qui, dès le début de son évolution, au moment de son entrée dans la vie active, frappent le jeune organisme d'une inertie insurmontable. Cette larve en état d'asthénobiose ne pourra briser sa torpeur qu'à la faveur d'impulsions nouvelles dont nous allons étudier maintenant la nature intime et le mécanisme.

L'œuf durable des *Aëdines* doit pour éclore recevoir de l'extérieur des influences stimulantes qui correspondent à un processus de FÉCONDATION SECONDAIRE ou de MÉTAGONIE.

Enfin nous voyons également que le temps de latence ou de repos imposé à la larve primaire dans l'œuf durable est mis à profit par elle pour réactiver son organisme, et le rendre capable, s'il s'agit de femelles, de produire à nouveau des œufs actifs. L'apparition de ces œufs dans les pontes est subordonnée soit à une suspension évolutive temporaire du moustique femelle dans l'œuf, ou temps de repos avant le développement larvaire, soit à une détente thermique réactivante exerçant ses effets au cours du développement larvaire lui-même.

L'œuf latent renfermant une larve primaire bloquée par les influences inhibitrices maternelles représente, chez les *Aëdines*, la larve ou la nymphe hivernante obligatoire de nombreux types d'insectes affectés d'arrêt évolutif spontané ou de diapause. L'action maternelle inhibitrice qui s'exerce sur l'ovule en cours de formation dans les gaines ovariennes des femelles est également comparable à celle qui frappe directement les tubes ovigères des femelles de mouches ou de moustiques (*Anopheles maculipennis*), de manière à les rendre temporairement infécondes en entravant pour un temps la croissance des



ovules. Enfin, nous avons montré que la rétention prolongée des œufs mûrs dans l'organisme des femelles de Phlébotomes provoque, chez la larve descendante, des effets inhibiteurs tardifs tout à fait comparables, dans leur nature et leur origine, à ceux que nous avons décrits pour le *Stegomyia* de la fièvre jaune. Seulement, dans le cas du Phlébotome, l'apparition de la période asthénique ou du blocage toxique est beaucoup plus lointaine encore que chez notre moustique. C'est seulement après son éclosion et après l'achèvement total de sa croissance à l'extérieur que la larve du Phlébotome bloquée voit survenir la phase d'inertie caractéristique. L'asthénobiose est primaire pour les larves primaires d'Aédines, alors qu'elle est terminale pour celles du Phlébotome. Mais la nature et le processus initial du phénomène restent les mêmes. Qu'il s'agisse de larves appelées à l'hibernation obligatoire après l'achèvement de leur croissance à l'extérieur, ou de larves astreintes, avant leur éclosion même, à une période d'attente correspondante, la suspension plus ou moins précoce ou tardive du métabolisme normal n'en relève pas moins des mêmes effets inhibiteurs exercés par l'organisme maternel sur les ovules *in situ*.

On voit ainsi que le processus d'arrêt évolutif qui caractérise chez le *Stegomyia* la formation des œufs durables se range exactement dans le cadre de tous les phénomènes de diapause, si variés dans leurs manifestations apparentes, qui caractérisent non seulement les insectes, mais une foule d'autres organismes. L'étude spéciale du *Stegomyia* nous permet de confirmer une fois de plus les notions générales que nous avons formulées touchant la nature essentielle uniforme de ces phénomènes obscurs qui jouent un si grand rôle dans la vie des invertébrés.

Enfin, l'apparition d'une diapause secondaire expérimentale chez nos larves de *Stegomyia* soumises à l'action de certaines substances d'excrétion normale est également fort instructive et mérite une considération toute spéciale. Nos expériences montrent en effet qu'en prolongeant pendant sa vie à l'extérieur l'action inhibitrice des éléments toxiques la larve de *Stegomyia*, après avoir triomphé de sa première période asthénique ou diapause primaire, retombe tardivement dans une

nouvelle phase d'inertie de même nature. Et cette phase de diapause secondaire est exactement celle que nous voyons se manifester chez la larve bloquée de *Phlebotomus pappatasi*, rendue obligatoirement hivernante au quatrième stade par rétention initiale des ovules dans l'ovaire maternel.

D'une façon plus précise encore, ce phénomène de diapause secondaire toxique se calque sur la deuto-diapause hivernale d'un Culicide très voisin du *Stegomyia*, l'*Aedes* (*Finlaya*) *geniculatus*. Nous avons établi en effet, avec J. Colas-Belcour (1926), que cette dernière espèce d'Aédine peut présenter, dans son cycle évolutif larvaire, deux périodes de diapause ou d'arrêt évolutif spontanées successives. La première est celle qui affecte la larve primaire, dans l'œuf dénommé œuf d'hiver, et qui est fondamentalement la même que celle des *Stegomyia* dans l'œuf durable. La seconde survient tardivement, au quatrième stade, lorsque le développement des premiers stades larvaires s'est effectué à basse température. Nous voyons alors, sous l'effet d'une croissance asthénique, la larve issue de l'œuf d'hiver retomber dans une deuxième phase d'inertie pseudo-hivernale, et cette phase est tout à fait superposable à la phase secondaire d'inertie que nous avons provoquée chez le *Stegomyia* sous l'action des influences toxiques extérieures. Elle survient exactement au même stade critique, le quatrième, qui correspond à l'achèvement de la vie larvaire et à la préparation de la nymphose. Ainsi, tous ces phénomènes, malgré leur diversité de manifestations apparentes, se laissent maintenant ramener à une interprétation uniforme qui permet de les situer dans un cadre commun. Nous avons l'espoir que l'orientation imprimée par nos recherches permettra aux études ultérieures un progrès considérable dans l'histoire des phénomènes dits de diapause chez les organismes inférieurs.

**DOUBLE CARACTÈRE DE L'HÉTÉRODYNAMIE CHEZ LE MOUSTIQUE DE LA FIÈVRE JAUNE.** — Il résulte enfin de cet ensemble de recherches que le *Stegomyia* de la fièvre jaune et vraisemblablement aussi tous les moustiques du même groupe, notamment l'*Aedes* (*Finlaya*) *geniculatus*, peuvent être considérés comme des organismes présentant un double mode d'hétérodynamie.

J'ai attribué (1922) le qualificatif d'hétérodynames aux orga-

nismes doués d'aptitudes évolutives dissemblables dont les générations sont tantôt actives, c'est-à-dire capables d'évoluer rapidement sans arrêt à température favorable, tantôt *ralenties*, c'est-à-dire affectées d'une période obligatoire d'asthénobiose. Nous voyons chez certains Muscides, chez certains Culicides comme l'*Aedes maculipennis* (1923, 1927, etc.), l'hétérodynamie se manifester cycliquement d'une façon régulière dans le cours des générations. C'est ce que j'ai appelé l'hétérodynamie régulière cyclique. Mais chez d'autres types d'insectes cette particularité physiologique n'apparaît pas fixée dans l'espèce suivant un mode immuable et elle se manifeste de manière irrégulière ou cyclique (Roubaud, 1927-1, 1928-2). Le *Phlebotomus pappatasi* est dans ce cas, puisque dans une même ponte nous observons irrégulièrement tantôt des individus extrêmement actifs, tantôt à la fois des individus actifs et des individus asthéniques.

Le *Stegomyia* de la fièvre jaune apparaît essentiellement aussi un organisme hétérodynamie *acyclique*, puisque, dans ses pontes, le plus habituellement on observe un mélange d'œufs actifs et d'œufs dont les larves primaires sont affectées d'asthénobiose. Mais l'hétérodynamie, chez ce moustique, peut se manifester en outre avec un caractère de régularité *cyclique* indiscutable lorsqu'on étudie, comme nous l'avons fait, les caractères de la descendance du moustique en partant des individus actifs. On voit succéder aux femelles actives, issues des œufs durables, des femelles inactives et, inversement, réapparaître des femelles actives en partant des œufs des précédentes femelles inactives. La périodicité régulière s'établit sous l'influence du phénomène curieux de la fatigue cyclique que nous avons exposé. Mais, chez notre moustique, ce processus d'hétérodynamie régulière n'apparaît pas encore définitivement fixé dans la série des générations, avec un caractère strictement héréditaire comme on l'observe chez les hétérodynames réguliers cycliques. Il dépend encore largement des circonstances extérieures et, en particulier, nous l'avons vu, de celles de la température. Ceci permet de comprendre comment l'hétérodynamie régulière cyclique a pris naissance.

## TROISIÈME PARTIE

LA RÉACTIVATION MÉTAGONIQUE  
DES ŒUFS DURABLES

Les chapitres qui précèdent nous ont donc amené à comprendre la nature et la raison d'être du curieux phénomène de l'inertie de l'œuf chez le *Stegomyia* de la fièvre jaune et, d'une façon générale, dans tout le groupe des *Aédines* qui est caractérisé comme on sait par des phénomènes de résistance ovulaire du même type. Les œufs durables sont des œufs bloqués par action toxique maternelle, l'action inhibitrice ne se traduisant pas par un arrêt précoce du développement embryonnaire, comme on l'observe par exemple chez le ver à soie et de nombreux papillons, mais, au contraire, par un arrêt tardif, manifesté chez la larve primaire au moment de son éclosion, c'est-à-dire de son entrée dans l'existence active.

Il résulte de tout ce que nous avons exposé antérieurement que le degré d'asthénie affectant les larves primaires dans l'œuf n'est pas uniforme, mais essentiellement variable non seulement suivant les pontes des individus divers, mais même suivant les différents œufs d'une même ponte. Les ovules les plus tardivement apparus au dehors sont plus fortement impressionnés par la charge toxique que les œufs évacués les premiers. On doit donc s'attendre à voir les effets inhibiteurs varier dans leur durée et leur intensité suivant les œufs. C'est là une notion importante, parce qu'elle permet d'expliquer les caractères éminemment variables de la réponse d'éclosion de l'œuf du *Stegomyia* aux différentes influences stimulantes. A ce point de vue, on peut dire que chaque ponte présente chez ce moustique des réactions différentes des voisines.

LES STIMULANTS MÉTAGONIQUES. EXCITANTS CATÉGORIQUES OU IRRÉSISTIBLES. EXCITANTS CONDITIONNELS OU RELATIFS. — Les œufs durables ne peuvent être rappelés à l'activité que sous l'influence de stimulants extérieurs. Ces influences excitatrices de



l'éclosion se présentent à nous comme ayant la valeur d'agents fertilisants supplémentaires prolongeant l'action initiale du spermatozoïde. Ce sont, comme je l'ai indiqué (1928), des stimulants ou excitants *métagoniques*, intervenant une seconde fois, après l'action fécondante première de l'élément mâle, non plus sur un ovule, mais sur un organisme déjà développé.



FIG. 14. — Groupe de larves primaires, issues d'œufs durables, à l'éclosion, sous l'action stimulante *irrésistible* de l'hypochlorite de soude.

Ces phénomènes curieux que l'on peut appeler phénomènes de *fécondation secondaire*, nous les retrouvons chez tous les insectes en état d'asthénobiose à des stades divers.

Le cas des *Stegomyia* et des moustiques de la tribu des *Aédines* rentre donc dans un cadre très général de phénomènes que j'ai dénommés phénomènes de la *métagonie*.

Si l'on étudie, d'une façon générale, les effets réactivants sur les œufs durables des divers types de stimulants étudiés précédemment, on peut reconnaître que ces stimulants n'ont pas

tous la même valeur apparente au point de vue de leur efficacité d'action. Le plus fréquemment, et c'est le cas pour la plupart des excitants physiques ou chimiques, la réponse d'éclosion de l'œuf à ces influences apparaît éminemment incertaine et variable. Toutes les expériences des auteurs confirment ce point de vue. Les actions de choc, d'hydratation, de refroidissement brusque, la plupart des produits chimiques agissant sur les Aédines peuvent provoquer des éclosions, mais toujours de façon incertaine, irrégulière. Tantôt les résultats obtenus sont importants, massifs, tantôt au contraire on n'obtient qu'un ou deux résultats d'éclosion ou même aucun.

Mais nous avons montré, d'autre part, que certains excitants comme les diastases digestives, l'hypochlorite de soude, donnent des résultats d'éclosion beaucoup plus nombreux que les autres stimulants. L'hypochlorite de soude, en particulier, exerce des effets constants sur les œufs de *Stegomyia* en état de viabilité. On peut dire que ce corps provoque aux doses faibles que nous avons indiquées des effets d'éclosion irrésistibles sur les œufs à l'état latent du moustique.

Nous distinguerons donc deux types essentiels d'influences stimulantes susceptibles de provoquer l'éclosion des larves des œufs durables. Les unes provoquent presque toujours une réponse rapide d'éclosion et les stimulants en question (diastases, hypochlorite) peuvent être dénommés excitants *catégoriques* ou *irrésistibles*.

Les autres ne provoqueront l'éclosion que d'une façon irrégulière et incertaine. Ce sont ce que j'appellerai les excitants *conditionnels* ou *relatifs*. Examinons maintenant le mode d'action de chacun de ces grands types de stimulants de l'éclosion.

#### I. — Mode d'action des stimulants irrésistibles : Influence sur l'œuf et sur la larve des diastases digestives et de l'hypochlorite.

L'influence exercée par les diastases digestives microbiennes ou les oxydants puissants, comme l'hypochlorite de soude, paraît au premier abord d'explication relativement simple.

Il semble que ces corps agissent en ramollissant ou dissol-

vant plus ou moins énergiquement la paroi de l'œuf durable, de manière à permettre la libération de la larve qu'il renferme. Cependant, en examinant les choses de plus près, on s'aperçoit qu'elles ne sont pas aussi simples et que l'interprétation du curieux phénomène de l'appel irrésistible des larves de *Stegomyia* par les diastases ou l'hypochlorite est, en réalité, très complexe. Pour comprendre le délicat enchaînement des processus qui amènent l'éclosion des larves sous ces influences, il est nécessaire de préciser tout d'abord la structure de l'œuf du *Stegomyia* et les caractères de l'enveloppe de l'œuf au point de vue morphologique et physiologique.

STRUCTURE DE L'ŒUF CHEZ LES AËDINES. — Les moustiques de la tribu des Aëdines présentent tous, comme on le sait depuis les recherches de Howard, Dyar et Knab, de Breslau, etc., la particularité de pondre à sec des œufs isolés les uns des autres, et non agglomérés en nacelles comme ceux des *Culex*. Ils se distinguent d'autre part des œufs d'Anophélines par l'absence de flotteurs latéraux.

La structure des œufs des Aëdines n'est pas dans son ensemble d'un type particulier.

Ces œufs présentent, comme tous ceux des Culicides, une paroi de nature complexe, composée de trois membranes successives qui sont, de dedans en dehors, les suivantes :

1° La membrane vitelline qui entoure directement l'ovule lui-même et fait corps avec la partie véritablement vivante de l'œuf.

2° Le chorion, membrane épaisse et élastique, qui constitue véritablement la coque de l'œuf. Ce chorion, dans les voies génitales du moustique et au moment où l'œuf est expulsé par la femelle, apparaît de couleur blanche. Mais, rapidement, sa coloration fonce sous l'influence d'oxydases et l'œuf entier prend une teinte noire.

3° Une fine membrane externe, que M. Mac Gregor dénomme membrane enveloppante et que je désignerai sous le terme d'*exochorion*. Cette membrane, au contraire du chorion proprement dit, est excessivement délicate et mince, transparente et incolore. C'est elle qui constitue le flotteur chez les œufs d'Anophèles. Cette membrane imperméable joue le rôle d'un

isolant ou hydrofuge qui permet à l'œuf de se maintenir à la surface de l'eau en raison de la tension superficielle du liquide.

Chez le *Stegomyia*, comme chez toutes les *Aëdines*, l'exochorion, étroitement appliqué sur toute la surface de l'œuf, l'enveloppe uniformément d'un réseau polyédrique, d'apparence cellulaire, particulier. A un fort grossissement, ce réseau se montre constitué par des éléments cellulaires polygonaux pourvus au centre d'un épaississement en bouton, saillant à la

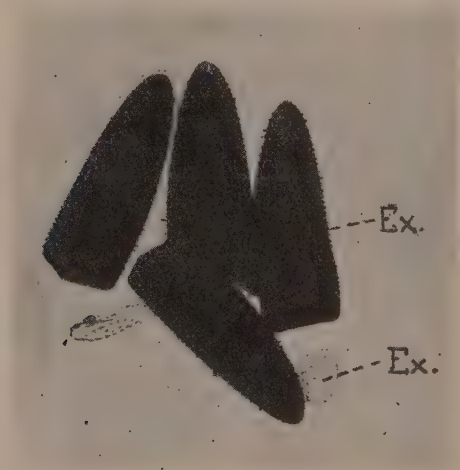


FIG. 15. — Groupe d'œufs après l'éclosion active spontanée. Le chorion est encore recouvert de l'exochorion *Ex.*, qui apparaît sous l'aspect d'une membrane ponctuée, en partie détachée pour l'un des œufs.

surface de l'œuf (Fig. 15 et Pl. XIX, fig. 1 *Ex.*). Il paraît vraisemblable que cette structure est due à une véritable exfoliation de la muqueuse des voies génitales dont les cellules, accolées étroitement au chorion, accompagnent l'œuf en l'entourant d'un revêtement membraniforme continu.

**ACTION DES DIASTASES ET DE L'HYPOCHLORITE SUR LA PAROI DE L'ŒUF.** — Cette membrane, qui prévient en quelque sorte le mouillage de l'œuf, l'isole relativement au sein du liquide environnant. Or, on peut reconnaître que tous les excitants du type catégorique ou irrésistible agissent sur l'exochorion, de



manière à le dissoudre plus ou moins rapidement en laissant intact le chorion sous-jacent.

Dans les solutions diastasiques faibles que nous avons envisagées, de même que dans les milieux de fermentation microbienne, les eaux souillées où se développent rapidement les larves, les œufs durables, après éclosion, se montrent toujours complètement *décapés*. La paroi membraneuse externe, avec ses



FIG. 16. — Œuf *dénudé* sous l'action de l'hypochlorite de soude, qui a dissous la membrane de l'exochorion et préparé l'œuf à l'éclosion.

aspérités mamelonnées transparentes, est entièrement détruite et le chorion seul demeure. (Fig. 16 et Pl. XIX, fig. 2.)

Dans les oxydants comme l'hypochlorite de soude, l'eau oxygénée ou les alcalis caustiques en solution faible, l'exochorion est de même rapidement dissous. Les solutions plus concentrées de ces substances agissent également sur le chorion lui-même qui, dans les solutions faibles, demeure intact. Sous l'influence des oxydants concentrés le chorion blanchit rapidement, perd sa coloration, puis se transforme en une mince membrane incolore de nature probablement chitineuse qui résiste plus longtemps aux réactifs. Dans des œufs ainsi traités, les larves sont infailliblement tuées sur place sans éclore. Il y

a lieu de se demander si la dissolution préliminaire de l'enveloppe membraneuse externe ne constitue pas le premier phénomène fondamental de l'action sur l'œuf des substances stimulantes irrésistibles. L'exochorion qui joue le rôle d'un isolant partiel étant rapidement dissous par les substances en question, agissant même en solutions très faibles, le chorion se trouve dès lors en contact direct avec ces solutions, soit par toute sa surface pour les œufs immergés, soit par sa surface inférieure s'il s'agit d'œufs flottant librement sur l'eau.

Malgré son épaisseur relative, on peut reconnaître que le chorion est perméable aux liquides et à certaines au moins des substances en solutions qu'ils renferment.

Si l'on place au contact de l'eau un œuf mort et desséché, dont la paroi est fortement aplatie et déprimée, on constate bientôt que la paroi de l'œuf se gonfle à nouveau, comme à l'état vivant, par absorption d'eau. Si cet œuf est placé au contact d'une solution à 1 p. 100 d'hypochlorite commercial, on ne tarde pas à voir se former à l'intérieur de la masse profonde de l'œuf, qui renferme les tissus desséchés de la larve, une bulle de gaz provenant de la décomposition de l'hypochlorite au contact de la matière organique des tissus. Cette constatation montre que l'hypochlorite pénètre facilement à travers la paroi du chorion et peut, dès lors, impressionner directement le tégument de la larve enclose dans l'œuf. On comprend ainsi facilement comment va s'exercer l'action irrésistible de cette substance.

**ACTION SUR LA LARVE EN ASTHÉNOBIOSE DES EXCITANTS IRRÉSISTIBLES.** — Lorsque les substances irritantes et caustiques qui constituent les excitants du type irrésistible ont pénétré par osmose à travers la paroi du chorion, après avoir au préalable détruit l'exochorion ou membrane isolante, elles agissent sur les téguments mêmes de la larve en asthénobiose et stimulent celle-ci de manière à rappeler chez cet organisme asthénique des mouvements actifs. Si la larve, en vertu du processus que nous étudierons plus loin de la réactivation spontanée, a déjà repris par elle-même un certain degré d'activité, sa réponse d'éclosion sera très rapide et nous la verrons éclore, ce qui se produit souvent quelques minutes après l'intervention des

excitants. Si, au contraire, cette larve est encore profondément asthénique, il lui faudra un ou plusieurs jours pour apparaître au dehors.

Les excitants irrésistibles, comme les diastases ou l'hypochlorite de soude en solution faible, paraissent agir, par une sorte de galvanisation brutale, sur les larves en état d'asthénobiose dans l'œuf. On peut penser que le mode d'action de ces stimulants est, somme toute, assez analogue à celui que déterminerait une irritation violente sur la larve en sommeil. Cette irritation est perçue vraisemblablement sur toute la surface du corps, aux parties molles d'articulation des segments de préférence. Avant son éclosion, les téguments de la petite larve, complètement décolorés, apparaissent d'ailleurs plus tendres et plus perméables que lorsqu'elle a commencé à se développer. La larve primaire, excitée par l'action irritante des substances digestives ou oxydantes qui ont traversé la paroi de l'œuf, s'agite à l'intérieur de sa coque, se ranime et progressivement effectue les mouvements nécessaires à sa libération.

On peut démontrer que l'éclosion des larves soumises à l'influence de ce type de stimulants est bien due à une irritation générale, excitatrice de la motilité, qui rappelle progressivement l'activité chez la larve asthénique. En plaçant des larves primaires, mécaniquement extraites de la coque d'œufs durables, dans des solutions de pepsine, de trypsine, d'eau oxygénée ou d'hypochlorite, on peut observer que ces larves y présentent des mouvements qui s'accélèrent beaucoup plus vite que dans l'eau pure. Les larves primaires extraites artificiellement de la paroi de l'œuf durable ne manifestent généralement que des mouvements peu actifs. Placées dans l'eau, elles ne nagent pas et réagissent simplement aux excitations par des mouvements mous de l'abdomen. Des larves d'*Aedes argenteus* et d'*A. geniculatus* placées dans des solutions diastasiques, à la température du laboratoire, ont témoigné, au bout de deux heures, des mouvements brusques en coup de fouet de l'extrémité abdominale, alors que dans l'eau les larves témoins n'avaient pas sensiblement modifié leur torpeur initiale au bout de ce temps d'observation.

L'augmentation progressive de l'activité chez les larves placées au contact des excitants diastasiques n'est pas due à

l'ingestion de matières nutritives, car, pendant cette période de réactivation, les mouvements des appendices masticateurs sont nuls. Dans mes expériences, j'ai pu réactiver des larves de *Stegomyia* et d'*Aedes geniculatus*, extraites préalablement de la coque de l'œuf, à l'aide des solutions diastasiques, au point de les voir reprendre les mouvements de natation définitifs.

Ces expériences sur l'action réactivante des excitants catégoriques, à l'extérieur de l'œuf, sont, on le conçoit, difficiles à réaliser dans des conditions parfaites, en raison de la difficulté d'extraire les larves primaires asthéniques sans les léser. Le plus souvent, la désoperculation artificielle de l'œuf durable s'accompagne de compressions ou de blessure des téguments qui nuisent à l'appréciation des résultats. Cependant on peut parfois réussir à obtenir des larves suffisamment intactes pour les voir reprendre une activité normale.

L'extraction des larves est plus facile si l'on soumet au préalable les œufs durables à l'action de substances ramollissantes, comme les alcalis dilués ou l'hypochlorite.

L'emploi de ces substances permet, d'autre part, de démontrer que l'éclosion des œufs durables au contact des substances réactivantes que nous envisageons : diastases ou hypochlorite, n'est pas due à des actions amollissantes simples sur la paroi de l'œuf. En effet, des œufs latents placés dans des solutions de soude à 10 p. 100 et examinés au bout de dix-huit heures se montrent gonflés et décapsulés, mais aucune larve n'a quitté la paroi de l'œuf. Toutes les larves sont mortes à l'intérieur du chorion sans éclore.

Dans une solution de soude à 4 p. 1.000, au bout de dix-huit heures les œufs montrent une paroi amollie; ils se décapsulent aisément à la pression mais les larves ne quittent pas la coque. Dans mes expériences je n'ai pu constater aucune libération des jeunes larves. En les extrayant mécaniquement, ces larves se montrent affectées de mouvements torpides. Un temps de séjour plus long dans la solution alcaline provoque leur mort sur place à l'intérieur de l'œuf, sans amener l'éclosion. Pas plus que l'amollissement total de l'enveloppe de l'œuf, la dissolution simple de l'exochorion n'est suffisante à elle seule pour provoquer l'éclosion irrésistible.

Des observations à ce sujet ont été faites avec l'hypochlorite



à 1 p. 500. Si l'on place dans cette solution des œufs durables de *Stegomyia* pendant cinq à dix minutes, on constate que la pellicule superficielle du chorion est dissoute, ce qui provoque l'amollissement correspondant de la paroi de l'œuf. Des œufs ayant été ainsi amollis par une action temporaire de l'hypochlorite sont lavés à grande eau, puis placés en observation dans l'eau du robinet. Tandis que les témoins placés dans l'hypochlorite à 1 p. 1.000 éclosent dans les vingt-quatre heures, aucun des œufs simplement décapés ne parvient généralement à l'éclosion dans ce temps.

Ainsi, contrairement à la première idée qui s'impose à l'esprit, touchant le mécanisme des actions irrésistibles exercées sur l'éclosion des œufs durables par les stimulants diastasiques ou des oxydants comme l'hypochlorite de soude, ces substances n'agissent pas simplement par une action dissolvante ou amollissante de la paroi de l'œuf durable. Les larves ne s'échappent pas d'elles-mêmes des œufs dont la paroi a été amollie. Pour que l'éclosion survienne, il est nécessaire qu'une action irritante spécifique s'exerce sur la larve elle-même, de manière à restaurer au préalable son activité, en rappelant la sensibilité nerveuse et les mouvements rapides. Lorsque les substances, comme les alcalis caustiques, n'agissent pas dans ce sens mais provoquent au contraire un accroissement de la torpeur, l'éclosion ne peut survenir même si l'œuf est amolli et sa calotte antérieure en partie décapsulée.

L'action irritante, pour qu'elle agisse comme stimulant nerveux, doit être forcément très faible, sinon elle provoque la mort des larves dans l'œuf avant de leur permettre la reprise de l'activité motrice. L'éclosion peut encore survenir d'une façon irrésistible, même alors que la substance irritante est en état de concentration suffisante pour provoquer la mort des larves après l'éclosion. Nous avons constaté avec les solutions de diastases digestives, comme avec les solutions d'hypochlorite, que les larves stimulées éclosent normalement mais qu'elles meurent ensuite plus ou moins rapidement après avoir nagé librement dans le liquide. Les solutions à 1 p. 1.000, 1 p. 5.000 d'hypochlorite se montrent ainsi des agents de stérilisation parfaits des œufs durables : ces solutions provoquent l'éclosion irrésistible des larves latentes, puis, l'excitant conti-

nuant à agir sur les larves libérées de l'œuf, déterminent rapidement leur mort. Les diastases digestives en solutions suffisamment concentrées agissent de même.

L'action stimulante exercée par ces agents irrésistibles, qui appellent à l'éclosion les larves dans un milieu qui leur est contraire, démontre bien que dans le mécanisme complexe de l'éclosion des œufs durables, chez les *Aëdines*, il n'intervient pas d'instinct prophétique. Les larves en asthénobiose obéissent aux stimulants d'une manière aveugle et ces stimulants irrésistibles exercent dans l'éclosion des jeunes larves une action comparable à celle de certains excitants brutaux dans la réactivation des larves asthéniques d'autres insectes. J'ai montré antérieurement que certaines larves de *Muscides* (larves au troisième stade de *Lucilia*) qui hibernent en état d'asthénobiose, comme les larves primaires de nos *Aëdines*, mais à un stade de croissance beaucoup plus avancé, proche de la nymphose, peuvent être rappelées à l'activité évolutive sous l'influence d'excitants brusques comme des chocs, des piqûres, des brûlures. Les stimulants irrésistibles, par leur action violente sur les téguments des larves primaires dans l'œuf durable des *Aëdines*, se comportent comme ces excitants brutaux qui galvanisent l'activité nerveuse des larves et les contraignent à abandonner leur état torpide.

RÔLE RÉGULATEUR DE L'EXOCHORION. MÉCANISME DE L'ÉCLOSION PAR LES EXCITANTS CATÉGORIQUES. — Ainsi, le phénomène essentiel de la stimulation produite par les excitants irrésistibles se ramène, pour nous, à un processus d'irritation générale perçue par la larve asthénique sur toute sa surface tégumentaire, à la faveur d'une pénétration, à travers le chorion, des substances stimulantes favorables.

Mais, dans ce processus d'éclosion il apparaît bien que la dissolution préalable de la membrane albuminoïde externe joue un rôle important, sinon obligatoire. Nous avons dit plus haut que les substances capables de provoquer des éclosions massives, déterminées et relativement rapides, telles que les diastases digestives et l'hypochlorite de soude, ont toutes le caractère commun de provoquer tout d'abord la disparition de l'exochorion. Inversement, on peut démontrer que des substances

irritantes et pénétrantes comme l'aldéhyde formique, qui ne déterminent pas la destruction initiale de la membrane externe, n'exercent sur l'éclosion des œufs de notre *Aëdine* qu'une influence nulle ou secondaire. Le formol, en solutions faibles ou concentrées, qui laisse intact l'exochorion, ne provoque aucune action stimulante comparable à celle des excitants irrésistibles sur les œufs durables de *Stegomyia*. Dans mes expériences, j'ai laissé de côté ce corps parce que je n'en ai point obtenu de réponses d'éclosions caractéristiques. On en peut déduire, semble-t-il, que la disparition ou les modifications physiques de l'exochorion représentent un processus fondamental de l'action des substances irrésistibles, et que la coque de l'œuf doit être perméabilisée ou préparée au préalable par un décapage suffisant pour que les substances aptes à provoquer l'éclosion agissent à travers le chorion sur les larves.

L'exochorion apparaît ainsi comme jouant un rôle régulateur dans l'éclosion en limitant ou interceptant le passage des substances stimulantes spécifiques.

Le mécanisme d'action des stimulants irrésistibles comporte donc, selon nous, deux phases successives : 1° une phase de préparation du chorion par destruction de l'enveloppe externe membraneuse qui isole l'œuf au sein des solutions; 2° une phase de stimulation des larves, après pénétration à travers l'enveloppe interne.

**RÔLE DE L'APPAREIL D'ÉCLOSION.** — La larve, excitée par les stimulants, traduit son retour à la sensibilité par des mouvements à l'intérieur de l'œuf. Bientôt la calotte antérieure de l'œuf cède sous les efforts de la larve. Ici intervient le rôle fondamental de l'appareil d'éclosion qui caractérise les larves primaires de *Culicidés*.

Ces larves sont en effet pourvues, comme on sait, d'une petite plaque chitineuse arrondie, située dans la région dorsale de la tête et qui supporte en son centre une petite dent ou pointe aiguë qui joue un rôle essentiel dans la décapsulation de l'œuf (Pl. XIX, fig. 1 et 2, *Ap.*). Je ne reviendrai pas ici sur la description de cet appareil, bien connu depuis Packard, Berles, Edwards, Ségué, etc. et qui est comparable à la dent céphalique des larves de *Puces*.

Les figures que j'en donne permettent de se rendre compte de son mode de fonctionnement. La dent chitineuse, mue par des muscles obliques, soulève la paroi de la coque chitineuse et celle-ci se fend brusquement sous la forme d'une calotte régulière.

Il semble que dans cette opération, qui va permettre à la larve de se libérer de l'enveloppe de l'œuf, la dent d'éclosion n'agisse pas simplement par soulèvement brusque de la paroi. Sans doute prépare-t-elle le terrain en déterminant une striation interne comparable à la rayure d'une pointe de diamant sur le verre. Le chorion cède ensuite facilement au niveau de cette ligne de moindre résistance. Il est en effet très difficile de désoperculer régulièrement les œufs durables par pression simple. Pour faire sauter la calotte antérieure de l'œuf, par compression, il faut exercer une action qui paraît hors de proportions avec les moyens mécaniques dont disposent les petites larves. Encore la désoperculation de l'œuf s'effectue-t-elle, artificiellement, le plus souvent d'une manière irrégulière, tandis que la calotte découpée par la larve elle-même offre, comme on peut le voir dans la photographie un contour net et régulier.

## II. — Mode d'action des excitants conditionnels. Importance de la réactivation spontanée.

Les excitants catégoriques paraissent donc agir en provoquant une secousse nerveuse plus ou moins brutale chez la larve en sommeil; aussi donnent-ils une réponse d'éclosion massive, impérieuse. L'hypochlorite de soude, aux doses indiquées, exerce l'action la plus active, supérieure même aux actions diastatiques et surtout à celles des agents microbiens. Nous avons indiqué plus haut que les eaux souillées ne permettent pas toujours d'obtenir des éclosions totales dans un lot de pontes; il y a souvent des œufs qui résistent complètement aux stimulants microbiens alors qu'ils n'échappent guère à l'action de l'hypochlorite.

Les excitants, que nous dénommons *conditionnels* ou *relatifs*, exercent une action beaucoup plus incertaine et irrégulière que



celle des stimulants précédents. On peut ranger dans cette catégorie les actions *physiques* : refroidissement brusque, ou réhydratation après dessèchement; les excitants *mécaniques* ou actions de *choc* (agitation, contacts, changements de milieux, etc.). Enfin nous rattacherons également à cette catégorie la plupart des excitants chimiques : acides, alcalis, oxydants comme l'eau oxygénée ou le permanganate de potasse, alcools, éthers, sucres, etc. En solution faible, tous ces corps sont aptes à provoquer des éclosions, comme nous l'avons indiqué, mais de façon essentiellement incertaine. Tantôt la réponse sera très favorable et nous verrons même survenir des éclosions massives à peu près comparables ou même supérieures à celles que provoquent les diastases ou l'hypochlorite. Tantôt, au contraire, la réponse d'éclosion sera très faible ou même absolument nulle. Essayons d'interpréter les raisons de cette grande variabilité dans la réponse aux excitants de l'éclosion de l'œuf du *Stegomyia*.

LA RÉACTIVATION SPONTANÉE DE LA LARVE  
A L'INTÉRIEUR DE L'ŒUF DURABLE.

SA DÉMONSTRATION PAR L'ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DES ACTIONS DE CHOC.

Nous avons tout d'abord montré que tous les œufs d'une même ponte n'étaient pas également affectés par l'action toxique inhibitrice du développement; que les œufs les plus rapidement expulsés étaient moins profondément affectés que les œufs les plus tardivement formés dans la profondeur des gaines ovariennes, par le patrimoine d'intoxication maternel. On conçoit donc que la résistance des œufs aux différentes influences stimulantes de l'éclosion puisse être très inégale. Et c'est là en effet la raison essentielle du phénomène : les œufs résistent plus ou moins parce qu'ils renferment des larves plus ou moins profondément intoxiquées.

Cependant l'étude plus approfondie des facteurs d'éclosion m'a permis également de constater qu'il convient de tenir compte, dans l'appréciation de ces faits complexes, d'un facteur contraire de *réactivation spontanée*. Les larves asthéniques des œufs durables tendent à reprendre peu à peu leur activité au fur et à mesure que le temps s'écoule. A la faveur du repos

métabolique complet qui leur est permis dans l'œuf durable, ces larves reprennent peu à peu spontanément une certaine excitabilité; et cette réactivation qui succède à l'asthénie première leur permet, au bout d'un temps plus ou moins long, de réagir positivement à l'action des stimulants relatifs, qui primitivement les laissaient indifférents.

Je donnerai la démonstration de cette conception en étudiant les effets du choc sur les œufs durables, en fonction du temps.

LES PHASES D'EXCITABILITÉ AU CHOC DANS LES PONTES DE STEGOMYIA. — Si l'on soumet chaque jour à une agitation brusque, de quelques secondes seulement de durée, une ponte de *Stegomyia* soit flottante, soit immergée dans une eau ne contenant pas de matières organiques, on constate généralement les phénomènes suivants :

Dans les trois premiers jours du dépôt de la ponte, à 25-28° C., aucune éclosion ne se produit, puis, à partir du troisième jour, une éclosion massive plus ou moins importante peut se déclencher et des larves peuvent éclore chaque jour à la suite de l'agitation.

Vers le huitième jour, ces éclosions cessent habituellement et les œufs restants demeurent sans éclore pendant un temps plus ou moins long.

L'agitation quotidienne du liquide étant poursuivie, dans les mêmes conditions, pendant tous les jours qui suivent, on voit, au bout de plusieurs semaines, ou de plusieurs mois, la sensibilité au choc réapparaître dans la ponte. Des éclosions, d'abord isolées, recommencent à se manifester, puis l'abondance des éclosions, après avoir passé par un maximum, décroît progressivement et s'annule.

Il y a donc, dans une ponte donnée de *Stegomyia*, généralement deux périodes ou phases d'excitabilité au choc qui peuvent être absolument séparées dans le temps. La première phase, qui correspond aux œufs *subactifs*, déclenchera l'éclosion dans les tout premiers jours chez les larves les moins profondément affectées par l'asthénobiose. Après cette première phase, survient un temps d'arrêt plus ou moins long, au cours duquel les œufs restants, ou œufs durables, ne répondent plus par l'éclosion aux agitations journalières de la masse d'eau. Enfin, après ce temps

négalif, survient une nouvelle phase plus ou moins tardive d'excitabilité qui permet l'éclosion progressive, parfois simplement partielle, souvent totale ou quasi-totale, des œufs déposés.

Au cours de la phase première d'excitabilité, seuls répondent les œufs subactifs qui sont déjà presque aptes, par eux-mêmes,

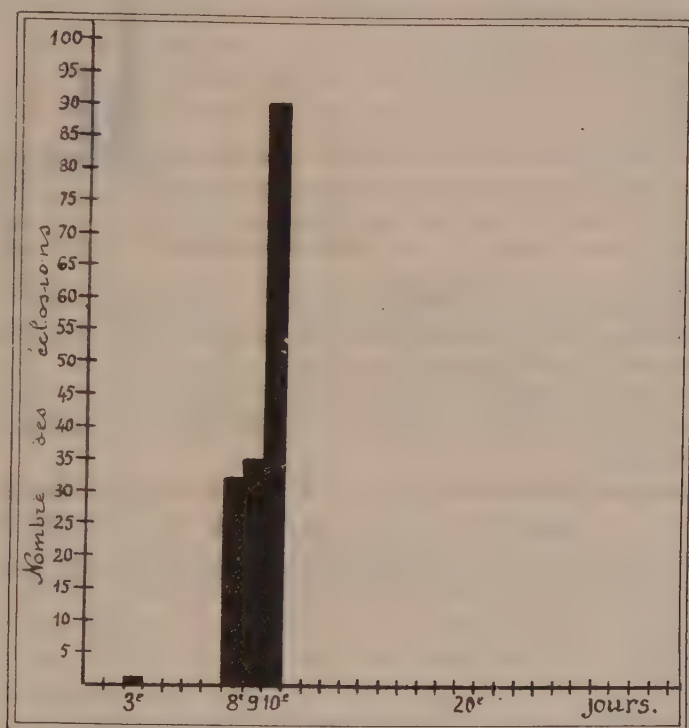


FIG. 17. — Effets de l'excitation mécanique sur l'éclosion de l'*Aedes argenteus* dans un groupe de 300 œufs soumis à une agitation quotidienne de quelques instants.

Première phase d'éclosion le troisième jour (œufs actifs).

Deuxième phase d'éclosion, massive, du huitième au dixième jour.

à l'éclosion spontanée. Lorsque cette première catégorie physiologique d'œufs a répondu, par l'échappement des larves, à l'excitation mécanique, il reste encore un nombre plus ou moins grand d'œufs durables dont les larves, plus profondément asthéniques, ne peuvent pas tout de suite réagir de la même manière que les précédentes à l'action des chocs.

A la faveur du temps de repos qui leur est offert dans l'œuf, ces larves récupèrent lentement leur excitabilité, si bien qu'au bout d'un temps variant de quelques jours à plusieurs mois,

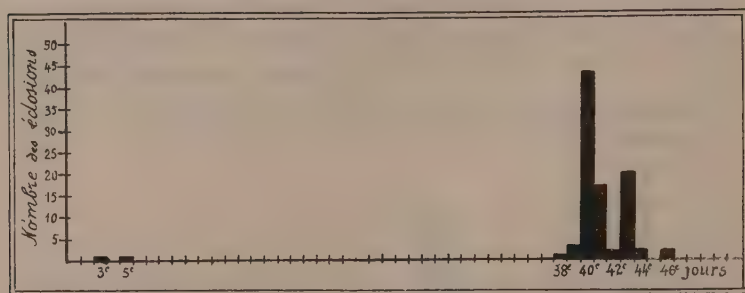


FIG. 18. — Effets de l'excitation mécanique sur un groupe de 107 œufs d'une même ponte, soumise à une agitation quotidienne pendant quelques instants.

Première phase d'éclosion du troisième au cinquième jour (œufs actifs et subactifs).

Deuxième phase d'éclosion, massive, survenant du trente-huitième au quarante-huitième jour.

suivant les pontes, on voit les œufs réagir positivement à l'excitation.

Dans mes expériences, j'ai vu la phase tardive d'excitabilité au choc se manifester parfois après huit mois de séjour des

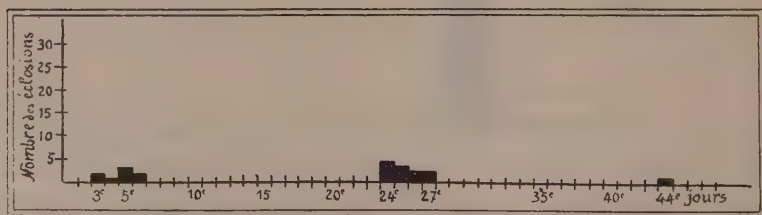


FIG. 19. — Effets de l'excitation mécanique sur un groupe de 85 œufs d'une même ponte, soumise à une agitation quotidienne pendant quelques instants.

Première phase d'éclosion du troisième au sixième jour (œufs actifs et subactifs).

Deuxième phase d'éclosion, massive, du vingt-quatrième au vingt-septième jour.

Éclosion tardive isolée le quarante-quatrième jour.

œufs à l'état latent, dans l'eau, à la température du laboratoire. Je donne, dans les graphiques ci-joints, quelques observations typiques touchant les phases d'excitabilité de pontes diverses



de *Stegomyia*, qui ont été soumises chaque jour à une agitation brusque et momentanée de quelques secondes à peine.

Dans le graphique 1 (fig. 17), on voit une première phase d'éclosion se manifester au troisième jour, une deuxième beaucoup plus massive du huitième au dixième jour.

Le graphique 2 (fig. 18) montre une première phase du troisième au cinquième jour; une deuxième, massive, s'échelonne du trente-huitième au quarante-sixième jour. Après l'épuisement de cette grande phase, quatre œufs seulement dans le groupe de ponte avaient échappé à l'éclosion sous l'influence

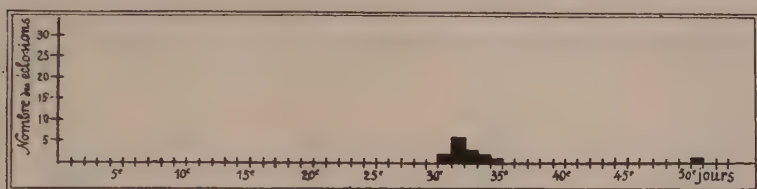


FIG. 20. — Effets de l'excitation mécanique quotidienne sur une ponte d'*Aedes argenteus*. Type à une seule phase massive d'éclosion survenant du trentième au trente-cinquième jour; une éclosion tardive isolée le trente et unième jour.

du choc, ainsi que l'épreuve à l'hypochlorite a permis de le reconnaître.

Le graphique 3 (fig. 19) montre une première phase d'éclosion par agitation survenant du troisième au sixième jour. Une deuxième phase s'est manifestée du vingt-quatrième au vingt-septième jour, puis la réponse des œufs restants, qui représentaient encore les deux tiers de la ponte, est devenue nulle. Il est vraisemblable qu'une nouvelle période d'excitabilité sera mise en évidence ultérieurement pour ces œufs plus résistants (1).

Nous avons donné en effet comme thème général l'existence de deux phases d'excitabilité principale pour une ponte donnée de la même femelle. Mais ce n'est point là une règle absolue. Il peut n'y avoir qu'une seule phase d'excitabilité tardive, la phase de réponse précoce des premiers jours étant abolie, comme dans le graphique n° 4 (fig. 20). Il pourra également se pro-

(1) Effectivement, après la rédaction de cette observation, une troisième phase d'éclosion a pu être encore amorcée le quarante-quatrième jour, ainsi qu'il est montré dans le graphique de la figure 19.

naire pour les œufs très résistants d'un lot de ponte une ou plusieurs périodes supplémentaires tardives de réponse aux excitants mécaniques.

En résumé, ces expériences démontrent que les œufs d'une ponte donnée de *Stegomyia* doivent, pour réagir par l'éclosion à l'agitation du milieu, être en état de réceptivité à l'égard des impressions de choc. Les larves en asthénobiose ne sont pas pour la plupart aptes à réagir d'emblée à ces excitations. Elles doivent subir au préalable un temps donné de *réactivation* qui leur confère une sensibilité suffisante pour réagir par l'éclosion aux actions mécaniques. Les larves réactivées dans l'œuf se

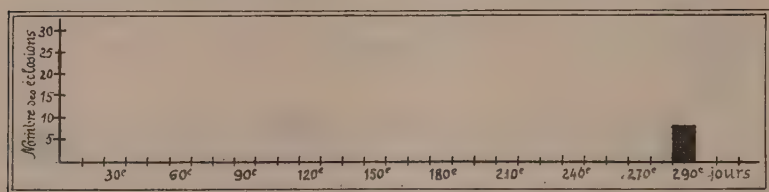


FIG. 21. — Effets d'une excitation mécanique tardive sur une ponte d'*Aedes argenteus*, soumise antérieurement à des agitations inefficaces au cours du premier mois.

Éclosion vers le huitième mois, sous l'influence d'une agitation de quelques instants.

présentent dans un certain état physiologique de *surlatence*, qui n'est pas sans analogie avec l'état physique de sursaturation ou de sursaturation. Ces larves, en effet, quoique aptes à la vie active, demeurent en latence jusqu'à ce qu'une minime impulsion de choc les incite brusquement à changer d'état. De même qu'une parcelle cristalline au contact de la solution mère est indispensable pour provoquer la cristallisation d'une solution en sursaturation, de même un contact léger, une agitation momentanée subite mais très minime est nécessaire pour faire cesser l'état de surlatence des larves réactivées et provoquer des éclosions qui auraient pu survenir beaucoup plus tôt. Toutes les larves d'une même ponte ne parviennent pas à un état suffisant de réactivation, strictement au même moment; mais on peut constater, par les expériences ci-dessus, que la réactivation s'opère souvent, pour le plus grand nombre, sensiblement dans des délais semblables. Ceci paraît démontrer que les groupes d'œufs formés au même niveau des gaines ovariennes et expulsés

dans le même temps par une femelle présentent un degré d'asthénie sensiblement égal.

Si, au lieu d'étudier la ponte d'une seule femelle, on étudie un mélange d'œufs d'origines différentes, les réponses d'éclosion sous l'influence de l'agitation apparaîtront naturellement beaucoup plus irrégulières.

Ces phénomènes permettent de comprendre les résultats très différents obtenus par les auteurs qui ont étudié les effets de l'agitation du liquide sur les œufs de *Stegomyia*. Lorsque la réponse d'éclosion est négative, c'est que les larves des œufs sont insuffisamment réactivées pour obéir à l'excitation. Mais de ce qu'un groupe d'œufs durables ne réagit pas aux effets de l'agitation, on ne peut déduire que ce type d'excitant est ici sans valeur pour provoquer l'éclosion. L'excitabilité des larves, nulle dans le moment considéré, pourra devenir positive un peu plus tard, lorsque ces larves auront achevé leur réactivation dans l'œuf. On peut poser en principe, croyons-nous, que les œufs durables de *Stegomyia* sont tous aptes à *réagir* aux excitations mécaniques par l'éclosion, à un moment donné; mais la réaction n'apparaît qu'à des périodes très variables, tantôt très précoces, tantôt plus ou moins éloignées suivant les œufs, et qui sont fonction du temps nécessité par les larves pour récupérer leur excitabilité. Lorsque les excitations mécaniques (chocs, agitation, déplacements, etc.) interviennent en dehors de la phase favorable où l'excitabilité est devenue suffisante, ces excitations sont inopérantes sur les œufs durables.

Ces considérations s'appliquent évidemment aussi aux autres types d'excitants. Ceux-ci agissent d'autant mieux que les larves des différents œufs auront acquis une sensibilité suffisante pour réagir par l'éclosion à toutes les influences modificatrices de leur milieu. Les actions chimiques, physiques ou mécaniques n'agiront sur les œufs durables, en dehors des facteurs *catégoriques* étudiés plus haut, que si les larves à l'état latent dans ces œufs ont récupéré par le repos une sensibilité réactionnelle suffisante. Ainsi s'explique la grande variabilité dans la réponse des œufs durables à la majorité des excitants. Certains excitants ne sont aptes à provoquer l'éclosion que si les larves ont atteint la *condition d'activité*. Ils sont inaptes à rap-

peler l'activité par eux-mêmes. C'est pour cette raison que nous dénommons cette catégorie de stimulants : excitants *conditionnels*.

NATURE DE LA RÉACTIVATION SPONTANÉE DES ŒUFS DURABLES. — L'étude des phases de sensibilité au choc des œufs durables permet donc de reconnaître que la larve primaire en asthénobiose ne demeure pas physiologiquement inactive au cours de sa période de latence à l'intérieur de l'œuf. La période de repos qu'elle subit obligatoirement dans l'œuf durable, période qui peut se prolonger pendant des mois, n'est pas uniquement une période d'activité négative ou d'inertie. Au cours de cette période, la larve se *réactive* ; elle reprend peu à peu l'énergie et la sensibilité nerveuse suffisante pour pouvoir accomplir ensuite les mouvements d'éclosion et passer à l'état de développement actif. La période d'asthénobiose des larves primaires d'Aëdines dans les œufs durables est donc, comme pour tous les insectes affectés de la même inertie (Phlébotomes, Culicides, Muscides, etc.), une période réactivante au cours de laquelle les effets inhibiteurs toxiques hérités de l'organisme maternel doivent être compensés. Il nous semble bien que chez le *Stegomyia*, comme chez tous les insectes affectés d'asthénobiose hivernale, la réactivation s'opèrera d'autant mieux que l'œuf durable aura été soustrait à l'influence d'une haute température. Nous avons indiqué précédemment les effets défavorables exercés sur ces œufs par une conservation à sec à température élevée. D'autres expériences nous ont montré qu'en milieu humide, à la température de 28° C. à l'étuve, une mortalité considérable survient également parmi les œufs durables. La nécessité d'une détente d'*hypothermobiose*, pour assurer la reprise d'activité ultérieure de ces œufs, nous apparaît certaine. Placé à une moyenne inférieure à 20° C., mais voisine de ce degré thermique qui représente la limite d'activité normale de l'espèce, ces œufs se trouvent alors placés dans les conditions d'*athermobiose réactivante* dont nous avons démontré la nécessité générale pour assurer la réactivation des organismes en asthénobiose.

A la faveur de ce repos athermique, les larves asthéniques reprennent peu à peu l'activité qu'un stimulant léger leur permettra ensuite de manifester par l'éclosion.



En quoi consiste cette réactivation ? Conformément à la thèse générale que nous avons développée à ce sujet, elle ne peut correspondre essentiellement qu'à une période d'épuration physiologique, au cours de laquelle la surcharge toxique héritée de l'activité métabolique maternelle se trouve peu à peu éliminée. L'activité des organes excréteurs de la jeune larve, qu'il s'agisse des tubes de Malpighi, ou plutôt du tissu adipeux, organe important de fixation excrétrice, extrait du sang peu à peu les éléments de désassimilation en surcharge. L'organisme physiologiquement épuré, débarrassé des éléments toxiques en excès qui provoquent l'asthénie, la dépression physiologique de l'insecte, récupère peu à peu son excitabilité. La durée de cette période de réactivation ou d'épuration spontanée variera naturellement beaucoup suivant le degré d'asthénie des larves. Pour certaines d'entre elles, correspondant aux œufs subactifs, la réactivation ne nécessitera que quelques jours, voire quelques heures ; pour d'autres, correspondant aux œufs durables les plus résistants, cette période devra être prolongée pendant des mois.

ACCROISSEMENT PUIS DIMINUTION DE L'EXCITABILITÉ DES LARVES PRIMAIRES DES ŒUFS DURABLES AVEC LE TEMPS. — Les données qui précèdent permettent de comprendre les effets favorisants de l'*anhydrobiose* ou de l'*athermobiose* prolongées, sur les œufs durables, que nous avons antérieurement signalés. Au fur et à mesure que ces facteurs de repos réactivant voient leur durée d'action s'accroître, les larves primaires récupèrent davantage leur excitabilité et leur aptitude à la vie active.

Cependant, la durée de conservation des larves en état d'asthénobiose dans l'œuf n'est pas illimitée. Lorsque les excitants propres à déterminer l'éclosion n'appellent pas à l'époque favorable la larve à la vie active dans le milieu liquide, les larves réactivées, au repos dans l'œuf, tendent à perdre peu à peu leur aptitude à l'éclosion.

Par exemple, la femelle  $\alpha^3$  de l'expérience A a pondu des œufs subactifs capables d'éclosion à l'agitation dès le quatrième jour de la ponte. L'hypochlorite à 1 p. 1.000 détermine à ce moment une éclosion sub-immédiate des œufs sur lesquels ce stimulant est éprouvé: 6 œufs sur 6, traités

à l'hypochlorite au quatrième jour, éclosent en moins de dix minutes.

Une nouvelle épreuve est faite dans les mêmes conditions trente-trois jours plus tard, les œufs ayant été conservés à bonne température au laboratoire. On note cette fois une durée beaucoup plus longue dans les effets de l'excitant catégorique. Les premières larves écloses apparaissent en quarante-cinq minutes; les plus tardives ne se libèrent de l'œuf qu'au bout d'environ deux heures. La rapidité de réponse des larves à l'excitant s'est donc atténuée sensiblement au bout de trente-trois jours; on note aussi que ces œufs ne réagissent plus à l'agitation.

Ainsi, des larves qui ont récupéré leur excitabilité au cours de leur période de réactivation spontanée dans l'œuf durable, si elles ne sont pas appelées à l'état actif par un stimulant approprié à cette époque, tendent à perdre peu à peu leur aptitude à réagir par l'éclosion. Au fur et à mesure que le temps s'écoule, ces larves qui ont dépassé la limite de leur résistance en condition active dans l'œuf, deviennent de plus en plus incapables de réagir aux stimulants et de manifester leur éclosion. On peut trouver souvent des larves encore vivantes dans des œufs anciens qui n'ont pu être appelés à l'activité par aucun stimulant approprié. Ces larves désormais inaptes à l'éclosion sont vouées à la mort à l'intérieur de l'œuf.

J'ai pu constater le fait non seulement pour l'œuf de *Stegomyia*, mais aussi pour les œufs conservés pendant longtemps de *Aedes geniculatus*. Des œufs de cet Aédine conservés à sec depuis plusieurs mois au laboratoire n'ont pu être que très difficilement et en très petit nombre appelés à l'éclosion, en faisant agir, à plusieurs reprises différentes, des diastases digestives (pepsine et trypsine) [1] sur ces œufs. Cependant, à l'examen microscopique, ces œufs *épuisés* renfermaient encore des larves vivantes pour la plupart.

La larve primaire des œufs durables, une fois *réactivée* dans son œuf, ne semble plus apte à conserver bien longtemps sa vitalité. Ses échanges métaboliques devenus plus actifs provoquent son épuisement rapide. Elle se trouve dès lors dans les

(1) Je mentionnerai ici que l'hypochlorite de soude, si efficace comme excitant catégorique d'éclosion pour le *Stegomyia*, ne m'a jamais donné de réponse d'éclosion pour les œufs d'*A. geniculatus*.

mêmes conditions que les larves des œufs spontanément actifs lorsqu'elles ne peuvent éclore dans les délais normaux. Les œufs actifs, en effet, qui sont aptes à l'éclosion spontanée quelques jours après leur dépôt ne jouissent pas de la propriété de conservation prolongée qui caractérise les œufs durables. Si ces œufs sont placés à sec avant d'éclore, on constate les phénomènes suivants : ou bien la larve lorsqu'elle est apte à l'éclosion décoiffe la calotte antérieure de l'œuf et meurt la tête à l'orifice de l'œuf ; ou bien elle se déshydrate peu à peu et meurt à l'intérieur de la coque intacte qui se déprime et s'aplatit.

RÔLE POSSIBLE DE L'EXOCHORION DANS L'ÉCLOSION CONDITIONNELLE. —

Lorsque les larves primaires inactives ont repris par réactivation spontanée, dans l'intérieur de la coque des œufs durables, un degré suffisant d'excitabilité, elles sont aptes à percevoir toutes les modifications brusques susceptibles d'affecter leur milieu : agitation, modifications dans la température, l'éclaircissement, la constitution chimique des eaux, etc., toutes ces diverses causes d'excitation se traduiront, chez la larve enfermée dans sa coque, par la production des mouvements qui provoqueront l'éclosion.

L'éclosion purement spontanée ne paraît qu'exceptionnellement pouvoir se produire. Il semble qu'une excitation extérieure quelconque intervient toujours au préalable pour déclencher l'éclosion chez les œufs durables, cette excitation pouvant se borner à une atteinte très légère à la paroi de l'œuf.

Le rôle régulateur de l'exochorion, dont nous avons déjà parlé à propos des excitants catégoriques, se pose ici également et il semble que la destruction même partielle de cette délicate membrane, lorsqu'elle est lésée par arrachement, par une action brutale de réhydratation après dessèchement, par de lentes actions microbiennes s'exerçant à son contact dans des eaux peu riches en matières organiques, soit susceptible de hâter l'éclosion des larves réactivées. Les expériences suivantes montrent en effet que la suppression partielle ou totale de l'exochorion n'est pas sans influencer l'éclosion ultérieure des œufs durables. Ces expériences ont été toutes pratiquées avec un lot d'œufs durables en cours de réactivation, dont la plupart ont éclos par agitation une quinzaine de jours plus tard.

### A. *Grattage partiel de l'exochorion :*

Le 6 décembre, 4 œufs sont soumis à un grattage superficiel par friction au sable fin, de manière à provoquer des lésions plus ou moins accentuées de l'exochorion. Ces œufs sont ensuite placés dans de l'eau de robinet à 28° C. Quatre œufs témoins non grattés sont placés à part dans les mêmes conditions.

On note, pour les 4 œufs grattés, 1 éclosion après vingt-quatre heures, 1 éclosion après quarante-huit heures. Enfin une troisième larve éclot le quatrième jour.

Tous les témoins et l'œuf restant restent sans changement.

### B. *Dissolution de l'exochorion par l'hypochlorite de soude ou l'eau oxygénée :*

3 œufs du même lot sont soumis à un *décapage* dans une solution à 1 p. 500 d'hypochlorite de soude. En quelques minutes, la membrane de l'exochorion est entièrement dissoute. Les œufs sont alors lavés à plusieurs reprises pour enlever toutes traces d'hypochlorite, puis ils sont placés dans l'eau de robinet à l'étuve.

On note 1 éclosion au bout de quarante-huit heures. Les autres œufs et les témoins restent inaltérés.

7 œufs sont placés le 7 décembre dans une solution d'eau oxygénée commerciale, qui provoque la dissolution lente de l'exochorion. Puis ils sont lavés et replacés dans de l'eau pure. Au bout de deux heures à l'étuve à 28° C., on note 1 éclosion, 3 autres en vingt-quatre heures. Les témoins restent sans changements.

### C. *Lésions provoquées à l'exochorion par action de réhydratation brusque après déshydratation :*

7 œufs sont plongés le 7 décembre dans l'alcool absolu pendant deux minutes, puis brusquement immergés dans l'eau de robinet. L'exochorion se montre en partie détaché par endroits. Les œufs sont ensuite placés à l'étuve à 28° C. On note une première éclosion le troisième jour, une deuxième huit jours plus tard. Les œufs témoins restent sans éclore.

Ces expériences font ressortir l'action certaine jouée par l'exochorion dans le délicat mécanisme de l'éclosion des œufs latents d'*Aëdines*. Alors que les lots témoins sont tous demeurés sans changements, des éclosions ont été constatées dans tous les lots traités. Les réactions d'éclosion ont, pour la plupart, été tardives, se manifestant bien après le moment d'intervention du processus utilisé pour léser ou faire disparaître la membrane albuminoïde externe. On ne peut donc attribuer aux excitations déterminées par ce processus lui-même le déclenchement de l'éclosion.



Tous ces œufs traités n'ont pas, il est vrai, réagi par l'éclosion. Mais nous savons que toutes les larves ne sont pas réactivées au même moment, et qu'elles ne répondent jamais strictement, simultanément, aux excitants relatifs. L'irrégularité dans la réponse tient à ce que toutes les larves ne sont pas au même point de réactivation dans les expériences (1), et aussi à ce que le degré d'altération de l'exochorion a pu être plus ou moins marqué.

L'exochorion paraît donc bien jouer un rôle régulateur dans l'éclosion des œufs sous l'influence de certains stimulants relatifs. Il semble que, lorsque cette membrane qui joue le rôle de dialyseur est détruite, la perméabilité du chorion aux liquides et au gaz, les échanges osmotiques, et surtout sans doute les échanges respiratoires soient légèrement modifiés. La jeune larve, déjà parvenue à la réactivation, se trouvera par suite impressionnée par les conditions nouvelles qui l'affectent dans son œuf, et si le degré de sa réactivation le permet elle traduira par les mouvements intérieurs qui déclenchent l'éclosion les excitations qu'elle reçoit de ces changements dans le petit espace clos où elle a vécu jusqu'alors.

Mais toutes ces impressions d'excitations relatives n'auront d'effet déterminant réel sur l'éclosion que lorsque les larves seront déjà parvenues à la condition d'activité. Comme l'apparition de cette dernière est essentiellement variable suivant les œufs, puisqu'il y a une infinité de degrés dans l'état d'inertie des larves primaires, il s'ensuit que l'efficacité d'intervention des modifications de l'exochorion se montre aussi des plus irrégulières. Toute l'histoire de l'éclosion des œufs de *Stegomyia* est subordonnée à l'imprévu.

**RÉCUPÉRATION DE LA SENSIBILITÉ AUX ACTIONS DE CHOC SOUS L'INFLUENCE DE LA RÉACTIVATION DES LARVES PRIMAIRES PAR LES EXCITANTS IRRÉSISTIBLES.** — De même que les larves spontanément réactivées dans les œufs, après avoir subi les effets de l'anhydrobiose

(1) Le lot original des œufs qui ont servi à ces expériences, maintenu à 18-20° C., n'a réagi par l'éclosion à l'agitation mécanique qu'une quinzaine de jours plus tard. Au moment des expériences, les larves n'étaient donc pas suffisamment réactivées en général pour manifester leur éclosion par simple agitation du milieu.

ou de l'athermobiose prolongées, deviennent sensibles aux actions de choc et se libèrent rapidement de l'œuf sous l'influence de ces excitants conditionnels, de même les larves des œufs durables, lorsqu'elles ont subi l'influence stimulante d'excitants irrésistibles, deviennent aptes à répondre plus ou moins rapidement aux excitants mécaniques qui primitivement les laissaient indifférentes.

La stimulation produite par les effets de choc s'ajoutant à celle de l'excitant irrésistible provoque une réponse plus rapide des larves asthéniques à ce dernier excitant.

Ainsi, par exemple, un lot de ponte d'œufs durables de *Stegomyia* du 14 décembre, soumis à des actions de choc quotidiennes, a révélé une série d'éclosions en une seule phase échelonnées du 14 janvier au 3 février, dont le détail a été donné plus haut.

Les œufs restants demeurent désormais insensibles aux influences mécaniques, et aucune nouvelle éclosion ne se manifeste jusqu'au 23 février.

A cette date, une goutte d'hypochlorite de soude est ajoutée au milieu. Au bout d'une demi-heure, avant qu'aucune éclosion ne se soit encore manifestée, sous l'influence de l'excitant chloré, une agitation générale de la masse provoque 7 éclosions immédiates. Une heure plus tard, nouvelle agitation qui déclanche 4 éclosions immédiates. Les autres œufs qui n'ont pas été influencés par l'agitation éclosent beaucoup plus tardivement, au nombre de 9, sous l'action plus lente de l'excitant chloré.

Après dix-huit heures, quelques œufs demeurent encore sans éclosion. Une nouvelle agitation est alors conférée à la masse liquide. Elle provoque encore deux éclosions nouvelles.

Le phénomène a pu être suivi pendant plusieurs jours, avec les mêmes résultats. Il démontre bien les effets réactivants exercés, *per os*, sur les larves encloses dans l'œuf par les excitants catégoriques tels que l'hypochlorite. Ces excitants restaurent artificiellement l'activité des larves à un degré plus ou moins prononcé, en galvanisant leurs énergies vitales. Mais, lorsqu'il s'agit de larves particulièrement déprimées, par exemple celles des œufs durables ayant séjourné longtemps en état d'immersion au fond d'un récipient, et qui ont résisté

à des influences stimulantes multiples, alors la stimulation provoquée par les excitants catégoriques devient insuffisante à elle seule pour déclancher définitivement l'éclosion.

L'addition complémentaire des influences mécaniques vient compléter ici l'action de l'excitant catégorique et provoque la réponse rapide des larves asthéniques stimulées.

Ces faits montrent qu'il y a parfois avantage à joindre les excitants de choc aux stimulants catégoriques, tels que l'hypochlorite de soude, pour compléter, dans un but pratique, l'action de ces stimulants.

## RÉSUMÉ

### Importance des œufs durables dans le cycle évolutif des *Aédines*.

#### LE RAJEUNISSEMENT CYCLIQUE OBLIGATOIRE DE L'ESPÈCE.

L'étude de l'ensemble des faits que nous avons développés permet de se représenter désormais la valeur biologique et la signification pour l'espèce de ces œufs durables, susceptibles d'une conservation si prolongée et d'une éclosion si brusque, qui caractérisent non seulement le Moustique de la fièvre jaune, mais encore toute la tribu particulière de Culicides à laquelle il appartient, les *Aédines*.

Jusqu'ici ces œufs ne sont guère apparus que comme des éléments reproducteurs aptes à entretenir l'espèce d'une saison à l'autre, en lui permettant de franchir soit une période de sécheresse prolongée, soit la mauvaise saison hivernale.

A la lumière des faits qui précèdent nous pouvons désormais affirmer que ces éléments ont un autre rôle plus important encore que le précédent, et que nos études antérieures sur le rajeunissement hivernal de certains Culicides nous avaient permis de laisser entrevoir (1). Les œufs durables permettent aux *Aédines* de réagir contre des effets de surcharge toxique soit

(1) V. Les désarmonies de la fonction rénale.

héréditaires, soit externes, qui tariraient fatalement le développement des moustiques. Les œufs durables renferment des larves asthéniques affectées d'épuisement précoce, qui ont hérité de leurs parents des tares de fatigue ou de sénilité incompatibles avec un nouveau développement actif.

Pour que ce développement puisse reprendre il faut que la larve, à la faveur du repos complet qui lui est imposé dans l'œuf, se réactive, en annihilant les effets de surcharge toxique qui entravent le jeu normal de son métabolisme. L'œuf durable est donc un agent de *rajeunissement obligatoire* qui confère cycliquement aux individus la vigueur nécessaire pour un développement rapide.

En ce qui concerne le *Stegomyia* de la fièvre jaune, moustique qui se développe dans des collections d'eau habituellement très restreintes, dont le renouvellement n'est pas toujours facile, qui d'autre part est astreint, de par sa localisation géographique, à vivre assez constamment à haute température, l'apparition des œufs durables constitue pour l'espèce un recours obligatoire rapide contre les effets défavorables d'un labeur physiologique continu.

Nous avons montré que l'accumulation des excréta toxiques des larves dans les eaux de développement du moustique retarde le développement de ces dernières et provoque, chez les femelles retardées qui en dérivent, la suppression des pontes actives, à développement rapide immédiat. C'est là une première forme de cette action frénatrice précieuse : elle empêche le surpeuplement continu des milieux déjà souillés par des développements antérieurs, et prévient ainsi les effets défavorables qui en résulteraient à bref délai pour les larves.

D'autre part, nous avons reconnu que le *Stegomyia* de la fièvre jaune, quoique nettement thermophile puisque les observations s'accordent à considérer comme impossible son existence au-dessous des isothermes de 20° C., *ne s'accommode pas d'un maintien permanent à haute température d'activité*. Les individus issus, à haute température, de larves actives qui se sont développées par éclosion spontanée, sans subir de période obligatoire de repos dans l'œuf, ne possèdent plus la propriété de donner naissance à des individus semblablement actifs. Leur épuisement physiologique se traduit par l'apparition des œufs



durables qui réalisent ici une deuxième forme de trêve nécessaire dans l'activité du cycle.

L'apparition de la phase de repos dans l'œuf survient, en effet, à point pour empêcher l'épuisement définitif des générations du cycle. Nous avons vu qu'en partant de l'œuf durable on obtient des pontes *actives*, dans lesquelles le nombre des individus capables de se développer immédiatement, sans arrêt, est d'autant plus grand que la phase de repos réactivant dans l'œuf durable a été plus prolongée pour les femelles. Mais ces individus actifs, se développant sans arrêt, nous ne les retrouverons plus à la génération suivante si le développement s'est maintenu à haute température. L'épuisement physiologique qui résulte de cette hyperactivité entraînera chez les descendants le retour obligatoire au temps d'arrêt réactivant de l'œuf durable. Ainsi, nous voyons ce processus biologique naturel intervenir pour disjoindre la continuité du cycle, pendant le temps nécessaire à la reprise énergétique, c'est-à-dire au rajeunissement des individus asthéniques.

#### ADAPTATION DES ŒUFS DURABLES AUX AGENTS MICROBIENS. —

L'action stimulante toute particulière exercée par les agents microbiens et les levures des eaux souillées sur les œufs latents de *Stegomyia*, le mécanisme complexe de leur intervention que nous avons développé et précisé, permettent de considérer les œufs de ce Moustique, et les œufs des *Aédines* en général, comme remarquablement adaptés aux facteurs microbiens. L'action spécifique exercée sur l'enveloppe extérieure de l'œuf, puis à travers la paroi de celui-ci, sur la larve asthénique, par les diastases digestives, constitue un exemple, unique jusqu'à présent dans la nature, d'un organisme animal, existant à l'état libre, appelé à la vie active par des ferments solubles extérieurs. On peut comparer, dans une certaine mesure, l'intervention des microbes des eaux sur l'œuf de *Stegomyia* ou d'*Aedes geniculatus* à celle des diastases du tube digestif sur les œufs de vers parasites ou les kystes de protozoaires intestinaux. Mais, jusqu'à présent, dans le cas de ces organismes parasites la libération parasitaire apparaît subordonnée simplement à la dissolution ou à un simple amollissement par les sucs digestifs des parois des œufs ou des kystes.

L'intervention des diastases digestives ou des ferments solubles microbiens sur les œufs de *Stegomyia* est d'un type biologique plus élevé. Non seulement nous constatons ici une préparation initiale de l'enveloppe albuminoïde de l'œuf par les agents digestifs qui, modifiant ou dissolvant la gaine isolante de l'exochorion, permettent le large contact des solutions avec l'enveloppe interne, mais nous voyons, de plus, les ferments solubles impressionner les larves dans l'œuf et les réactiver par une action stimulante spécifique. Enfin, cette action stimulante se pose ici avec la valeur d'une action fécondante métagonique ou réactivante, puisque les individus issus des œufs durables, sous l'influence catégorique des actions microbiennes, donnent naissance à des pontes réactivées, renfermant des œufs susceptibles cette fois de développement spontané.

Les œufs durables, chez les *Aëdines*, peuvent donc être conçus pour ces différentes raisons comme représentant, pour ces curieux moustiques, un mode d'adaptation aux agents microbiens extérieurs. En ce qui concerne le *Stegomyia* de la fièvre jaune, il n'est d'ailleurs pas douteux que toute l'existence larvaire de l'espèce dépende des microorganismes. Nous avons pu, avec J. Colas-Belcour, obtenir le développement intégral des larves en présence de cultures pures de certains microbes : *B. coli*, sarcine jaune, ou de levures.

On peut dire que non seulement la réactivation de l'œuf durable dépend, dans une large mesure, des agents microbiens des eaux, mais encore que toute la vie larvaire du moustique est en dépendance directe avec la vie microbienne du milieu qui l'entoure.

**LE MODE DE DÉPÔT DE L'ŒUF DANS LES LIEUX DE PONTE ET L'ADAPTATION ENTIÈRE DE L'ESPÈCE AUX ACTIONS MICROBIENNES.** — Cette conception se trouve encore élargie si l'on se reporte à ce que nous avons indiqué dans la première partie de cette étude, relativement au choix électif des milieux de fermentation par les femelles, pour le dépôt de leurs pontes. D'une façon constante, les œufs sont déposés de préférence sur un substratum organique apte à une décomposition microbienne. Si les eaux elles-mêmes sont suffisamment chargées des produits de cette activité, elles reçoivent également directement les pontes, alors

que celles-ci ne sont pas normalement déposées sur l'eau, quand cette dernière est pauvre en microorganismes et en matières organiques.

On peut reconnaître, dans ce choix caractéristique du lieu de ponte par les femelles, une adaptation délicate de l'espèce aux actions réactivantes diverses qui sont aptes à favoriser l'évolution. Le dépôt des œufs en surface de l'eau ou sur les bords des gîtes en condition exondée n'est pas indifférent et il est guidé par une attraction sûre dans ses effets pour le bien de l'espèce.

Si le milieu liquide ou les parois du gîte sont pauvres en microorganismes, l'œuf est placé en condition exondée. Il devra subir les effets des stimulants conditionnels, après un délai de repos favorable à la réactivation spontanée de la jeune larve. Il ne m'est cependant pas apparu, au cours de mes recherches, que le choix des femelles distingue à ce point de vue entre les œufs aptes à un développement rapide ou entre les œufs durables, sous le rapport du lieu de ponte. Les œufs capables d'éclosion spontanée sont parfois déposés à sec de même que les œufs inactifs. Cependant les premiers n'ont aucun bénéfice à retirer d'une période d'anhydrobiose et les jeunes larves meurent fréquemment par dessèchement après avoir fait sauter leur opercule protecteur chez les œufs actifs placés au-dessus de la nappe d'eau.

Mais, d'une façon générale, l'attente à sec sera favorable aux pontes lorsque le milieu de développement ne renferme pas les agents de fermentation ou de décomposition organiques propices aux larves, et le dépôt hors de l'eau des œufs par les femelles constitue dans ces conditions un acte utile pour l'espèce.

Lorsqu'au contraire le gîte renferme ces éléments, en quantité suffisante pour que les ferments solubles impressionnent d'une manière irrésistible les œufs inactifs, l'attente prolongée dans l'œuf par les larves des influences réactivantes conditionnelles n'est plus aussi nécessaire. La stimulation catégorique produite par les actions microbiennes des eaux souillées est apte à produire des effets de réactivation favorables dans un délai très court. L'œuf alors peut être utilement déposé à la surface même des eaux, et c'est en effet ce que l'on constate.

Ainsi, les tropismes qui guident le mode de dépôt des œufs,

chez les femelles de *Stegomyia*, nous apparaissent comme correspondant pour le mieux aux nécessités de la réactivation du cycle évolutif, telles que nous les avons formulées pour ce type de moustique hétérodyname.

### Les œufs durables et la prophylaxie des affections transmises par l'*Aedes argenteus*.

L'étude que nous avons entreprise, en révélant la vraie nature et l'importance biologique des œufs durables dans le cycle évolutif du *Stegomyia*, remet en question la prophylaxie ancienne des affections transmises par ce redoutable Culicide, en particulier celles de la fièvre jaune et de la dengue.

Jusqu'ici, la principale mesure d'action qui a été mise en œuvre contre le dangereux moustique est la lutte antilarvaire, qui consiste dans la recherche soigneuse au jour le jour des larves présentes dans une collectivité et leur destruction immédiate. Cette mesure a suffisamment fait ses preuves pour que son efficacité ne puisse être mise en doute.

Cependant, les résultats obtenus ne le sont qu'au prix d'une surveillance inlassable et d'une activité incessante, qu'il est difficile de maintenir dans toute sa rigueur au cours des années. L'expérience épidémiologique a maintes fois montré que fatalement, au bout d'un certain temps, l'activité des services antilarvaires se relâche suffisamment pour permettre l'éclosion de nouvelles périodes d'infection.

D'autre part, l'exercice de la surveillance antilarvaire s'est presque toujours accompagné, dans les pays à fièvre jaune, de pénalités particulières prescrites à l'égard des détenteurs de récipients à eau renfermant des larves. Ces pénalités ont-elles bien un fondement légal et n'est-il pas permis d'espérer un meilleur rendement professionnel des équipes de surveillance, en orientant mieux leur tâche et sans faire appel à des sanctions contre le public? C'est ce que nous allons examiner.

Les contraventions pour larves ont pour fondement la notion couramment admise que les larves de moustiques se développent dans l'œuf d'une façon relativement lente et qu'il faut au moins deux ou trois jours pour les voir apparaître dans un



liquide. Or ce que nous avons appris des conditions multiples d'irrégularité dans l'apparition des larves de *Stegomyia*, des circonstances essentiellement imprévues et soudaines de l'éclosion des œufs durables, montre que, pour ce moustique, il n'est pas toujours besoin d'une stagnation prolongée des eaux pour permettre l'apparition des larves. Dans nombre de cas le développement stegomyien pourra survenir à l'improviste, malgré les précautions prises par les particuliers pour ne pas conserver longtemps chez eux d'eaux stagnantes propices aux larves.

Nous savons en effet que les œufs durables parsèment la surface interne des récipients-gîtes : vases à fleurs, tonneaux, bassins et récipients à eau divers. Lorsque le liquide qui remplissait précédemment ces récipients est évacué, les œufs durables n'en continuent pas moins à conserver pendant longtemps des larves viables à leur intérieur. Qu'une nouvelle quantité d'eau vienne à remplir à nouveau ces gîtes infestés de germes latents de développement stegomyien, et l'on pourra voir en quelques secondes, sous le simple effet des actions de choc, dues à l'agitation du liquide, apparaître une nuée de petites larves. Malgré les précautions prises par les intéressés pour évacuer fréquemment le liquide contenu dans les récipients usuels, ils n'en tomberont pas moins sous le coup d'une pénalité possible, lors du passage d'une équipe de surveillance anti-larves. La menace permanente que font peser les œufs durables d'un développement imprévu de larves dans les collections d'eau d'usage courant fait qu'il n'est pas possible de conserver aux pénalités en cours un fondement légal réel. Même si les récipients à eaux sont vidés chaque jour, ils n'en pourront pas moins, s'ils ont été précédemment infestés d'œufs durables, renfermer fortuitement un jour ou l'autre des larves au moment même d'une inspection du service sanitaire. Il importe par conséquent de modifier les formules actuelles de pénalité pour larves de moustiques, en cours dans les pays à fièvre jaune : ces formules basées sur l'observation insuffisante et incomplète de la biologie de *Stegomyia*, assimilé au point de vue de son mode de développement à un *Culicide* banal, n'ont plus de raison d'être.

Il est beaucoup plus important, pour la réalisation effective de la prophylaxie anti-moustique qui nous intéresse, d'accen-

tuer le travail utile des équipes de destruction des larves en leur donnant les moyens d'obtenir des résultats plus complets. Jusqu'ici ces équipes n'ont porté leurs efforts de prospection et de destruction que sur les larves elles-mêmes, en cours de développement dans les eaux. Elles n'ont jamais été orientées dans le sens précis de la recherche et de la stérilisation des pontes latentes de l'Aédine. On voit par là quelle lacune regrettable est à combler dans l'orientation professionnelle de ces équipes.

Les œufs durables, sortes de graines ou germes latents de développement stegomyien, répandus partout où peut se constituer une collection d'eau favorable, doivent être d'autant plus suspectés d'entretenir la permanence de l'infestation stegomyienne qu'ils représentent non seulement un mode courant de conservation de l'espèce, mais encore un mode essentiel de réactivation de sa fécondité. Or cette phase essentielle de la vie de l'Aédine, au cours de laquelle il serait facilement accessible, a toujours échappé à la préoccupation des services anti-larvaires. Nous envisageons donc comme un gros progrès à apporter à l'œuvre si essentielle de ces services, dans les régions où la fièvre jaune et la dengue sont endémiques, la recherche et la destruction systématique des œufs latents des *Stegomyia*.

Le dépôt des œufs en condition exondée assure aux larves en asthénobiose qu'ils renferment des délais de réactivation favorables à une reprise énergétique du cycle évolutif de l'insecte. Il faut donc les combattre par préférence, au lieu de se borner, comme il a été fait jusqu'ici, à détruire au hasard les larves quand on les trouve.

La destruction des œufs qui parsèment la surface interne des récipients ou des gîtes habituels de ponte du moustique pourra être réalisée de différentes manières, selon les circonstances et les ressources locales. Le procédé le plus simple pourra consister dans le grattage soigneux ou le curage intérieur des surfaces de dépôt accessibles, le flambage à l'aide d'une lampe d'émailleur, etc.

Dans nombre de cas, ces mesures simples mais laborieuses pourront être avantageusement remplacées par le traitement révélateur ou stérilisant, à l'hypochlorite de soude.

La javellisation ou les procédés habituels de stérilisation des eaux de canalisation par le chlore ne peuvent évidemment être

envisagés comme mesures suffisantes pour prévenir l'éclosion des œufs durables ou la destruction des larves. Il faut, comme nous l'avons vu, recourir à des proportions de Cl plus considérables pour agir plus efficacement sur les œufs de manière à provoquer, dans des délais assez courts, l'éclosion irrésistible des jeunes larves.

Dans la pratique, on pourra envisager l'emploi courant d'une dilution approximative à 1 p. 1.000 de la solution commerciale à 96 grammes de Cl au litre. La marge d'action utile du corps sur les œufs de *Stegomyia* est assez grande pour que cette dilution ne nécessite pas un dosage rigoureux. Les récipients suspects seront remplis jusqu'au bord et la solution sera maintenue en action pendant vingt-quatre heures environ.

On pourra se borner, pendant la période d'activité des moustiques, à effectuer une fois par mois, suivant un cycle à établir, le contrôle stérilisateur des récipients-gîtes dans une agglomération donnée. Pendant la saison sèche et fraîche, lorsque les moustiques sont plus rares, les opérations de stérilisation des gîtes pourront être rendues moins actives. Mais elles devront reprendre toute leur vigueur lorsque la période des pluies aura fait sa réapparition. A cette époque de transition, en effet, les œufs durables réactivés par une période prolongée d'anhydrobiose seront aptes à permettre des éclosions massives. Il importe essentiellement de les enrayer dès le début, parce que ces moustiques, réactivés et rajeunis par leur temps de repos dans l'œuf durable, donneront au nouveau cycle de développement qui commence une puissance d'expansion redoutable.

Les mesures de stérilisation des gîtes que nous sommes amené à envisager, comme complément essentiel du travail des équipes anti-larvaires, sont appelées, pensons-nous, à donner à leur œuvre prophylactique une efficacité plus grande, sans accroître sensiblement leur labeur professionnel. Le temps passé en visites et prospections incessantes pourra être plus utilement employé en stérilisations périodiques et automatiques des gîtes de ponte domestiques du moustique. En mettant ces équipes dans l'obligation d'effectuer périodiquement et rationnellement les opérations en question, sous la forme d'une stérilisation régulière et systématique de tous les gîtes usuels, sans tenir compte de la présence ou non des larves dans ces gîtes,

on obtiendra, d'autre part, une constance dans les résultats qui fait défaut trop souvent dans les prospections actuelles.

Les faits que nous avons développés dans ce travail pourront servir de base à une conception nouvelle du fonctionnement des services stégomyicides. En substituant, à la recherche ancienne trop exclusive des larves actives, la visite et la stérilisation systématique de tous les gîtes, pour s'attaquer avant tout aux germes latents toujours présents du développement larvaire, on évitera plus sûrement aussi les défaillances dans l'attention des prospecteurs. Il convient, en effet, de combattre par tous les moyens possibles cette redoutable tendance au relâchement dans les mesures de surveillance, qui se produit fatalement quand les menaces d'épidémie s'éloignent, lorsque les larves apparentes deviennent rares dans les collections d'eau. Si le danger est écarté, il ne l'est cependant que momentanément. La permanence des œufs durables qui demeurent inaltérés, dans l'attente des circonstances favorables à l'entrée en développement des larves, permettra bien vite au moustique qui y puise ses réserves biologiques profondes, ainsi que nous l'avons fait ressortir, de reprendre l'exercice de sa suprématie redoutable sur les collectivités humaines.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ATKIN (E.) et BACOT (A.), The relation between the hatching of the Eggs and the development of the larvae of *Stegomyia fasciata* and the presence of bacteria and yeasts. *Parasitology*, 9, 1917, p. 482.
- BACOT (A. W.), Rept. of the entomological investigation undertaken for the Commission for the Year, August 1914-1915. *Report Yellow Fever Commission* (West Africa), Londres, 3, 1916; The effect of the presence of bacteria or yeasts on the hatching of the eggs of *Stegomyia fasciata*, the Yellow Fever Mosquito. *Il. R. Microsc. Soc.*, 1917, p. 173; A note on the period during which the eggs of *Stegomyia fasciata* from Sierra Leone stock retain their vitality in a humid atmosphere. *Parasitology*, 10, 1918, p. 280.
- BOREL (E.), Note sur un procédé simple pour empêcher la ponte des moustiques dans les collections d'eau familiales indigènes. Au sujet de l'action empêchante de la couleur blanche sur la ponte des moustiques dans les jarres indigènes blanchies à la chaux. *Bull. Soc. Path. exot.*, 18, 1925, p. 779; 19, 1926, p. 702.
- BUXTON (P. A.), Race Suicide in *Stegomyia*. *Bull. Entom. Res.*, 16, octobre 1925, p. 151.
- BUXTON (P. A.) et HOPKINS (G. H. E.), Researches in Polynesia. Part. I-IV. *Mem. Ser. London School of Hyg. Trop. Med.*, n° 1, 1927.



- FIELDING (J. W.), Notes on the bionomics of *Stegomyia fasciata* Fabr. Part. I. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **13**, décembre 1919, p. 259.
- HOWARD (L. O.), DYAR (H. G.) et KNAB (F.), The Mosquitoes of North and Central America and the West Indies, Washington, 1912.
- MACFIE (F. W. S.), A note on the action of common alt on the larvae of *Stegomyia fasciata*. *Bull. Entom. Res.*, **4**, 1914, p. 339; Observations on the bionomics of *Stegomyia fasciata*. *Bull. Entom. Res.*, **6**, 1915, p. 205.
- MAC GREGOR (M. E.), Notes on the rearing of *Stegomyia fasciata* in London. *Il. Trop. Med. Hyg.*, **18**, 1915, p. 193; Resistance of the eggs of *Stegomyia fasciata* to conditions adverse to development. *Bull. Entom. Res.*, **7**, 1916, p. 81; The Structural Differences in the ova of *Anopheles maculipennis*, *A. bifurcatus* and *A. plumbens*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **15**, décembre 1921, p. 417.
- MARCHOUX, SALIMBENI et SIMON, La fièvre jaune. Rapport de la mission française. *Ann. Hyg. et Méd. Col.*, n° 2, 1904.
- ROUBAUD (E.), Etudes sur le sommeil d'hiver pré-imaginal des Muscides. *Bull. biol. France et Belgique*, **56**, n° 4, 1922; Les désharmonies de la fonction rénale et leurs conséquences biologiques chez les Moustiques. *Ces Annales*, **37**, juillet 1923, p. 627; Sur l'équivalence physiologique de l'anhydrobiose et de l'athermobiose dans la réactivation des organismes hétérodynamiques. *C. R. Acad. des Sciences*, 1914; Sur quelques phénomènes peu connus de la vie des Moustiques. *Bull. Soc. Path. exot.*, **19**, n° 4, 1926, p. 259; Sur l'hibernation de quelques mouches communes. *Bull. Soc. Entom. France*, n° 2, 26 janvier 1927; Les formes diverses de l'hétérodynamie chez les insectes à plusieurs générations. *Ibid.*, n° 1, 23 février 1927; L'éclosion de l'œuf et les stimulants d'éclosion chez le moustique de la fièvre jaune. *C. R. Acad. Sciences*, **185**, 13 juin 1927; Faits nouveaux concernant la vie et la destruction du moustique de la fièvre jaune. *C. R. Acad. des Sciences coloniales*, 16 novembre 1927; L'hétérodynamie et le rôle de l'athermobiose dans le cycle évolutif de *Phlebotomus pappatasi*. *Bull. Soc. Path. exot.*, **20**, n° 16, 1927, p. 613; Longue durée de l'athermobiose pseudo-hivernale chez *Phlebotomus pappatasi*. Action réactivante de l'athermobiose prolongée. *Ibid.*, **21**, 1928, p. 107; L'influence maternelle dans le déterminisme de l'asthénobiose acyclique. Métagonie et réactivants métagoniques. *C. R. Acad. des Sciences*, **186**, 30 avril 1928; Asthénobiose et hibernation obligatoire provoquées chez *Phlebotomus pappatasi* Scop. *Bull. Soc. Path. exot.*, **21**, 1928, p. 436; L'anhydrobiose réactivante dans le cycle évolutif de la pyrale du maïs. *C. R. Acad. des Sciences*, **186**, 1928, p. 792.
- ROUBAUD (E.) et J. COLAS-BELCOUR, Action des diastases dans le déterminisme d'éclosion de l'œuf chez le moustique de la fièvre jaune (*Stegomyia fasciata*). *C. R. Acad. des Sciences*, **184**, 24 janvier 1927, p. 248; La torpeur hivernale obligatoire et ses manifestations diverses chez nos moustiques indigènes, *Ibid.*, **182**, 1926, p. 871. Action des diastases et des facteurs microbiens solubles sur l'éclosion des œufs durables du moustique de la fièvre jaune. Recherches expérimentales. *Ces Annales*, **43**, 1929, p. 644.
- THEOBALD (F. V.), A monograph of the Culicidae of the World, Londres, 1901.
- YOUNG (C. J.), Notes on the bionomics of *Stegomyia calopus* Meigen in Brasil. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **16**, 1922, p. 389.

## LA SÉLECTION PHYSIOLOGIQUE DES FERMENTS PAR L'ALCOOL

par L. SEMICHON,

Directeur de la Station régionale de recherches œnologiques de Narbonne.

Nous avons montré en 1923 (1) que, dans la sélection naturelle qui s'opère au cours de la fermentation vinaire entre les divers microorganismes que les raisins apportent à la cuve, c'est l'alcool produit par ces microorganismes qui est l'agent essentiel de leur sélection.

Nous avons signalé combien cette propriété remarquable de l'alcool peut être avantageusement utilisée en vinification par l'emploi d'un système de fermentation continue : en introduisant régulièrement le moût vierge dans un moût en fermentation contenant déjà au moins 4 à 5 p. 100 d'alcool, on élimine automatiquement les microorganismes indésirables qui gâchent inutilement les sucres, en donnant un rendement en alcool inférieur et qui engendrent des mauvais goûts, notamment les moisissures et les levures apiculées. On obtient ainsi, sans stérilisation artificielle, des fermentations pures de levures elliptiques.

Dans un mémoire publié en 1926 (2) nous avons rapporté les conclusions de nos expériences fondamentales et donné les résultats favorables de l'application en grand de ces principes à la vinification sous la forme de fermentation continue.

Récemment (3), dans une communication à l'Académie d'Agriculture, nous avons montré l'application des mêmes principes à la vinification, sous une forme plus commode, celle dite de « fermentation superquatre ».

(1) Sur la préparation du vin par fermentation continue; sélection des ferments par l'alcool déjà formé. *C. R. Ac. Sc.*, 9 avril 1923.

(2) Nouveau procédé de fermentation continue. *Rev. de Vitic.*, juillet 1926.

(3) Les fermentations pures en vinification par le système de sélection dit de « fermentation superquatre ». *C. R. Ac. d'Agric.*, 20 mars 1929.

Ainsi l'application de la sélection physiologique des micro-organismes par l'alcool permet d'obtenir en vinification, sans stérilisation préalable, des fermentations alcooliques pures conduites uniquement par des levures elliptiques indigènes. En outre, elle ouvre à cette industrie un champ nouveau, celui de l'emploi rationnel des levures sélectionnées, jusqu'ici fermé par suite de l'action perturbatrice des microorganismes sauvages, la stérilisation des vendanges par la chaleur ou par l'anhydride sulfureux à dose massive s'étant montrée impraticable à divers titres.

\*  
\* \*

La découverte de cette propriété de l'alcool apporte dans la *technique microbiologique* un procédé nouveau et des applications intéressantes. Nous allons les préciser, en rapportant d'abord les expériences qui ont établi la valeur de l'alcool comme agent de sélection physiologique.

**LA SÉLECTION NATURELLE DANS LA FERMENTATION DES JUS DE RAISIN.** — Les botanistes, notamment de Seynes, Reess, de Bary, avaient cherché à caractériser les diverses espèces composant la microflore des raisins mûrs, avant que Pasteur y ait recherché les individus organisés causant la fermentation spontanée des raisins.

Cette microflore comprend quantité de microorganismes qu'on peut ranger en quatre groupes :

Des spores de *moisissures* et des *mycodermes* comprenant surtout des dematiums et des cladosporiums, puis des mucors, des penicilliums, des botrytis ; enfin, parmi les mycodermes, le *mycoderma vini* ;

Des *levures sauvages*, rentrant dans les catégories non comprises dans les *saccharomyces* par la classification de Hansen, parce qu'elles ne donnent pas d'endospores. On y trouve des torulas, certaines levures rouges signalées par Pasteur et surtout des levures apiculées très abondantes (*S. apiculatus*) ;

Des *levures elliptiques* (*S. ellipsoïdeus*) comprenant les levures de vin qui poussent le plus loin la fermentation des jus de raisin ;

Enfin des *bactéries*, parmi lesquelles sont à signaler surtout

celles qui donnent les principales maladies des vins : les Bactéries acétiques, les Bactéries mannitiques, les Bactéries propioniques, les Bactéries des fermentations visqueuses et des fermentations lactiques.

Quand on suit avec soin au microscope le phénomène de la fermentation vinaire, surtout si on a soin de le conduire lentement pour en bien observer les étapes, par exemple en se tenant à une température assez basse, voici ce qu'on observe :

Au début les spores des *moisissures* et des *mycodermes* se multiplient quelque peu sous la forme que revêtent ces micro-organismes en milieu immergé, puis ils disparaissent les premiers au bout d'un temps assez court.

Les *levures sauvages*, les *torulas* et surtout les *levures apiculées* se développent très rapidement et abondamment dès le début. Les levures apiculées surtout envahissent la culture, au point qu'elles y paraissent presque seules ; puis, assez brusquement, vers le milieu de la fermentation, elles décroissent et disparaissent.

Les *levures elliptiques* sont presque introuvables au début ; elles apparaissent vers le premier tiers ou la moitié de la fermentation, puis elles demeurent seules, les autres ferments ayant disparu.

Quant aux *bactéries*, on les aperçoit, plus nombreuses quand les raisins ont été altérés par les cryptogames, les insectes ou les accidents météoriques : raisins mildiousés, raisins oïdiés, raisins atteints par l'endémis ou la cochylis, raisins grêlés, etc. ; elles ne se multiplient que si les conditions leur sont particulièrement favorables, notamment si l'acidité fixe est faible et la température assez élevée.

Cette évolution, observée par de nombreux auteurs, a été très généralement attribuée à l'*activité* beaucoup plus grande des levures elliptiques qui arrivent, disait-on, à dominer les autres.

Ce terme exprime une idée inexacte. Avec des moûts pauvres en sucres, nous avons toujours observé que la même quantité de levures produit une transformation du sucre aussi rapide, dans une culture pure de *S. apiculatus* et dans une culture pure de *S. ellipsoïdeus*, les deux ferments ayant été isolés des mêmes raisins. Leur *activité* est donc très voisine.



Martinand et Herselin ont apporté une donnée plus exacte en faisant intervenir le nombre de cellules. Ils ont effectué de nombreuses numérations qui montrent que, sur les raisins, les levures apiculées sont bien plus nombreuses que les levures elliptiques que l'on ne rencontre souvent qu'à raison d'une ou deux cellules pour 200 cellules apiculées. Il peut en résulter assurément un retard dans le développement des levures elliptiques. Ceci, pas plus que *l'activité* spécifique, n'expliquerait l'arrêt et la disparition assez brusque des levures apiculées vers le milieu du phénomène.

Reess, Hansen, Muller-Thurgan, Wortmann, Riestch et Martinand ont observé que, dans des moûts stériles, les levures apiculées ne poussent la fermentation que jusqu'à 3 à 4° d'alcool, au maximum, selon les races. De nombreux auteurs ont fait des observations du même ordre sur un grand nombre de microorganismes, et notamment ceux qu'on trouve sur les raisins mûrs, en les cultivant dans des milieux artificiels contenant différents sucres, glucose, lévulose, lactose, maltose, sucre inverti, saccharose, etc.

Dans les cas d'action positive, on n'avait jamais précisé si l'arrêt de la fermentation et l'arrêt du développement végétatif, généralement connexes, étaient dus à un épuisement physiologique spécifique ou à une cause étrangère.

Nous avons d'abord contrôlé dans une première série d'essais, sur du moût de raisin stérile, jusqu'à quel point chacune des espèces entrant dans la composition de la microflore des raisins peut pousser la fermentation. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Les *levures elliptiques* (*S. ellipsoïdeus*) ont poussé la fermentation jusqu'à 14 à 15° d'alcool, quelquefois jusqu'à 16 à 17.

Les *levures sauvages* (*S. apiculatus* en particulier) l'ont poussée jusqu'à 3°9 à 5°2; une *torula* à 2°4; une levure rouge à 4°1.

Les *moisissures* et les *mycodermes* immergés (*Dematium pululans*, *Mucor erectans*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium glaucum*) n'ont donné que 0°5 à 2° d'alcool; un *Mucor erectans* est arrivé à 3°1.

Les *bactéries*, notamment les bactéries mannitiques, peuvent parfois donner de l'alcool aux dépens du glucose, mais en faible

quantité, quand elles sont placées dans des conditions favorables.

Ces résultats confirment les indications antérieures des auteurs.

**FERMENTATION EN MILIEU ALCOOLIQUE.** — Dans une autre série d'expériences, nous avonsensemencé les mêmes espèces dans le même moût de raisin stérile ayant subi une aération ménagée et préalablement *additionné d'alcool pur* dans les proportions de : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 p. 100.

Les flacons étant placés à l'étuve à 25°, nous avons relevé les observations suivantes :

Les *levures elliptiques* se multiplient et font encore partir la fermentation dans le moût additionné de 10 p. 100 d'alcool ; elles ne l'amorcent que très difficilement à 12 p. 100 ; à 14 p. 100 nous n'avons jamais pu y réussir.

Parmi les *levures sauvages*, les levures apiculées n'amorcent aucune fermentation dans un moût à 5 p. 100 d'alcool ; une fois seulement nous avons eu une trace de fermentation dans le moût à 4 p. 100. La *torula* n'a rien donné avec 2 p. 100 d'alcool ; la levure rouge n'a rien donné dans le moût à 3 p. 100 d'alcool.

Les *moisissures* et les *mycodermes* que nous avons expérimentés ne se développent pas si le moût a 2 p. 100 d'alcool ; 2,5 p. 100 pour le *Mucor erectans*.

A toutes les doses inférieures aux chiffres précités, il y avait multiplication sensible de l'espèce considérée et production d'alcool. Celui-ci, après distillation, était dosé à la pipette compte-gouttes de Duclaux.

Nous avons déterminé que ces chiffres ne varient pas sensiblement par des ensemencements plus copieux.

Ils ont été vérifiés en faisant varier les conditions de richesse en sucre, d'acidité et de température. Ils ne sont que très peu modifiés dans les limites de variation de composition des moûts naturels, la température variant de 10 à 35°.

Ainsi, *c'est l'alcool* qui met un terme à la multiplication de chacune de ces espèces, comme à la fermentation alcoolique qu'elles produisent ; l'alcool qu'elles engendrent produit le même effet que celui que nous avons ajouté au moût stérile

avant l'ensemencement. *La résistance à l'alcool de chaque espèce permet d'utiliser l'alcool comme agent de sélection physiologique.*

APPLICATION A LA VINIFICATION. — Dans l'application de cette propriété à la vinification, qu'il s'agisse de la fermentation continue ou de la fermentation superquatre, c'est l'alcool entrant dans la constitution du vin déjà formé, lequel reçoit le moût vierge, qui produit la sélection favorable aux levures elliptiques et l'élimination des autres microorganismes.

C'est par suite de la rareté relative sur les raisins des levures elliptiques, seules bénéficiaires de cette opération, que les conditions deviennent très favorables à l'introduction d'un levain choisi, et à l'emploi rationnel des levures sélectionnées.

Toutefois, nous avons eu soin de signaler que l'application de ce procédé ne doit pas faire abandonner le sulfitage rationnel qui a apporté en vinification un très sérieux progrès. L'anhydride sulfureux est, en effet, un agent de sélection physiologique beaucoup plus efficace que l'alcool pour l'élimination des bactéries, alors que l'alcool est beaucoup plus efficace que l'anhydride sulfureux pour l'élimination des autres microorganismes.

APPLICATION AUX MÉTHODES DE TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE. — L'action de l'alcool se manifeste aussi bien dans les cultures en milieu solide. Si l'on additionne de 4 p. 100 d'alcool du bouillon de touraillon gélosé, ou du moût de raisin gélosé, qu'on y sème tous les microorganismes que nous venons d'expérimenter, ces milieux solides, tubes ou boîtes de Pétri, mis à l'étuve à cultures à 25°, ne donnent naissance *exclusivement qu'à des colonies de S. ellipsoïdeus.*

Nous pensons donc que la méthode peut être généralisée et que, pour purifier des cultures, isoler des espèces ou des variétés de *Saccharomyces*, l'addition de doses variables d'alcool dans les milieux de cultures solides ou liquides est une *technique nouvelle* qui peut rendre des services importants.

SÉLECTION DES LEVURES INDIGÈNES. — Puisque l'emploi des levures sélectionnées a désormais un avenir nouveau, plein de

promesses, la recherche, l'isolement et l'étude des races les plus intéressantes devront être poursuivis activement. Il semble bien que c'est dans les lies des meilleurs vins indigènes qu'on a le plus de chance de trouver des levures ayant acquis, en vertu même de leur plasticité, des propriétés avantageuses pour leur emploi dans l'industrie du vin. L'étude des lies trouvera une aide précieuse dans cette nouvelle technique qui permettra d'en séparer de suite les levures elliptiques en milieu solide additionné d'alcool.

Mais il est un point qui demeure assez mystérieux dans l'évolution de la microflore qui s'attache à la pruine des raisins, quelques jours avant leur maturité. On a cru possible de caractériser les levures par la nature des raisins dont elles étaient originaires. N'est-ce pas un mythe d'espérer qu'une levure recueillie à la surface d'un raisin de cabernet ou de pinot a des relations particulières avec la composition ou la nature de ce raisin? — Quel insecte ou quel courant d'air l'a déposée là? — D'où venait-elle? — Que peut-elle avoir reçu des caractères de ce raisin sur lequel elle est demeurée inerte à peine quelques jours? — N'a-t-elle pas reçu plutôt une empreinte quelconque du sol où elle a passé l'hiver? de l'intestin d'un drosophile ou du nectar d'une fleur où elle s'est multipliée? — Quand on connaît toute la plasticité de ces microorganismes, on regrette de ne pas mieux connaître les évolutions hivernales et printanières de cette microflore et on pressent l'intérêt qu'on aurait à en pousser l'étude.

Cette étude est très ardue; mais il y a lieu de penser que les cultures sur milieu solide alcoolisé aideront beaucoup à découvrir les levures elliptiques perdues au milieu d'une population microbienne extrêmement hétérogène, soit dans le sol, soit chez les diptères, soit dans les vieilles écorces qui leur servent d'asile hivernal, soit dans les fleurs à nectar.

ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS DES LEVURES. — L'étude des propriétés des levures a été l'objet de très nombreux travaux. Nous avons toujours regretté que la pratique œnologique ne puisse en bénéficier pour les raisons que nous avons rapportées. Aujourd'hui que la sélection physiologique des germes par l'alcool permet d'éliminer tous les microorganismes perturbateurs, ces travaux



retrouvent un vif intérêt. Mais deux critiques doivent être exprimées sur les résultats qu'ils ont fournis, avant leur utilisation en vinification :

1° La plupart de ces études ont porté sur des moûts stérilisés par la chaleur : cette opération modifie sensiblement la nature des moûts, surtout en ce qui concerne les composés azotés, et les résultats de ces études ont pu en être affectés.

2° Dans ces études on s'appliquait à ne faire varier que l'élément dont on recherchait l'action (température, acidité, azote, phosphore, etc.) : or deux autres facteurs variaient d'un bout à l'autre de l'expérience, les sucres et l'alcool ; et nous avons montré la grosse influence de l'alcool, laquelle vient troubler singulièrement les résultats de ces essais.

Sur le premier point, il y aura lieu de procéder à des vérifications sur des moûts vierges. Sur le second, la fermentation continue, telle que nous avons été conduit à la pratiquer, rendra de grands services dans les laboratoires : on peut en effet reprendre ces études des propriétés des levures en opérant à température constante dans un milieu à richesse constante en sucre et en alcool.

L'ALCOOL ANTISEPTIQUE. — En appliquant ce qualificatif, comme l'a conseillé Duclaux, « à toute substance dont l'intervention sous une forme quelconque, dans une fermentation, modifie la marche du phénomène », l'alcool est une substance antiseptique dont l'action, selon sa dose, a une grande influence sur les ferments, variable selon leur espèce, leur race ou variété, et leur nombre.

Notre travail a bien mis en lumière son action spécifique sur les microorganismes. Il reste à faire toute l'étude de l'action de l'alcool sur chaque espèce, sur chaque variété. L'emploi de petits appareils à fermentation continue, fonctionnant à dose constante d'alcool, permet d'étudier la fermentation aux diverses phases du phénomène global, en faisant varier le régime ou la dose d'alcool d'une expérience à l'autre.

Dans un mémoire publié en 1925 (1), nous avons montré que

(1) Action de l'alcool sur la faculté élective des levures dans la fermentation des moûts de raisin. *C. R. Ac. Sc.*, 20-27 avril 1925 et *Ann. Sc. Agron.*, 1925.

*l'alcool a une action prédominante sur la faculté élective des levures*, c'est-à-dire sur leur pouvoir ferment vis-à-vis du glucose ou du lévulose. Nous en avons tiré des conséquences importantes en ce qui concerne la fermentation continue, en ce qui touche à la préparation des vins de liqueur, à la pratique du vinage, etc.

En fait, l'alcool, à mesure qu'il se produit et s'accumule dans les fermentations vinaires, n'agit pas seulement sur l'activité de la levure, mais aussi sur la nature et la quantité des produits qu'elle engendre. Nous avons dans la fermentation continue un moyen de déterminer comment varient les produits de la fermentation effectuée à 4-8-12-15 p. 100 d'alcool.

Dans quelle mesure ces produits varient-ils avec la levure elle-même?

Dans quelle mesure ces variations dépendent-elles de la vie végétative de la levure et de ses produits de désassimilation dans ces diverses conditions d'existence?

Dans quelle mesure dépendent-elles de l'action zymasique?

Cette action zymasique, qui n'est pas la même vis-à-vis du glucose ou du lévulose, subit-elle l'effet d'un autre facteur sur lequel agirait la dose d'alcool? Ou bien la levure sécrète-t-elle une zymase spécifique du glucose et une autre spécifique du lévulose sur lesquelles l'alcool agirait différemment?

Autant de problèmes qui sont posés ou soumis plus particulièrement à notre attention, depuis qu'est découverte la sélection physiologique des ferments par l'alcool, et depuis que la fermentation continue est signalée comme un procédé pratique d'en poursuivre l'étude.

La solution de ces problèmes peut singulièrement éclairer les mystères des fermentations, apporter des directions nouvelles à la vinification, modifier la composition et les qualités des vins que nous préparons, en même temps que les conditions de leur vieillissement.

## FOUR A STÉRILISER AUTOMATIQUE

par le Dr LOUIS MARMIER

Dans les *C. R. de la Société de biologie* du 20 juillet 1925 (t. XCIII, p. 637), nous avons décrit un four à flamber que nous avons fait construire par le mécanicien de l'Institut Pasteur de Lille. Sans aucune surveillance, tous les objets mis dans ce four sont convenablement stérilisés, et aucun ne subit d'excès nuisible de température.

Un ventilateur fait passer l'air sur les résistances électriques de chauffage, puis à travers les compartiments V où sont mis les objets à stériliser. L'air est enfin ramené par un circuit périphérique, *p*, sur les résistances chauffées par le courant. On a ainsi dans tous les compartiments une température homogène.

L'emploi du « thermostat », fabriqué depuis un an par les établissements Jules Richard, nous a permis de simplifier légèrement le réglage automatique et électrique de ce four.

Actuellement, voici comment est installé ce réglage automatique :

A l'arrêt, les deux contacteurs, M et S, que nous employons, sont dans la position figurée sur le schéma ci-après. A la mise en marche par la manœuvre de l'interrupteur placé sur le secteur, le courant de celui-ci, comme le montre la figure, arrive aux bornes K et L, *k* et *l*. La borne *l* est en connection, par l'interrupteur I, dont nous allons voir le rôle, avec les bornes E et H du thermostat. Pour les températures inférieures à 180°, le thermostat laisse passer le courant entre D et H et par conséquent dans la bobine du contacteur M. Celui-ci, pivotant alors vers la droite, laisse passer le courant du secteur dans la résistance de chauffage du four, principalement par le circuit L N A à T R P K.

Quand la température du four atteint 180°, le thermostat coupe le courant entre D et H et l'établit entre D et E. D'où il résulte que : 1° le contacteur M revenant à sa position de

repos, le courant de chauffage est interrompu; 2° le courant passant dans la bobine du contacteur spécial S, celui-ci va, dans notre figure schématique, se déplacer vers la droite, séparant *a* de A et amenant en contact *b* avec B, ainsi que *c* avec C. Le

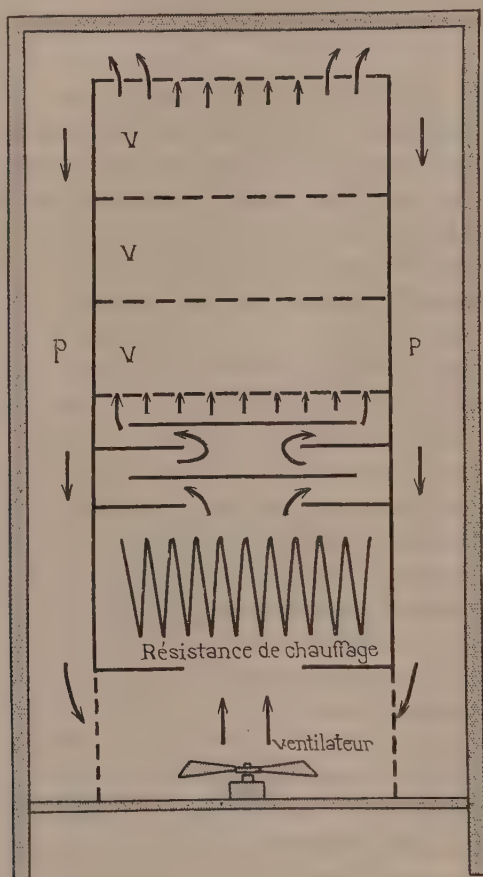


FIG. 4. — Schéma du four.

contact *cC* va mettre en marche la dynamo de la minuterie à servo-moteur. Cette dynamo à marche régulière, par l'intermédiaire d'un démultiplicateur, fait tourner la vis sans fin *zZ*. Sur cette vis se trouve un écrou mobile entraîné vers la droite par la rotation de la vis. Ce cheminement amènera l'écrou à buter contre l'interrupteur I, ce qui interrompra le courant entre ses



bornes 1 et 2. Cette rupture, arrêtant le courant dans les contacteurs, produit l'arrêt électrique complet des appareils.

Cette minuterie à servo-moteur compte donc le temps écoulé entre le moment où la température du four atteint  $180^{\circ}$  et le moment où s'arrête la dynamo, ce qui ne peut arriver qu'au moment où l'écrou agit sur l'interrupteur I, comme nous allons

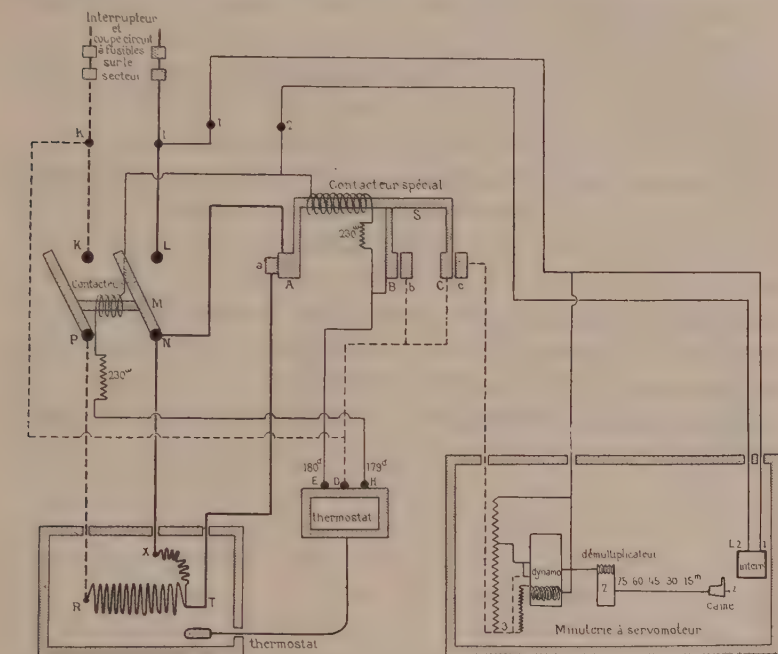


FIG. 2. — Schéma du montage électrique de marche automatique.

le voir dans un instant. La vis sans fin portant des graduations en minutes, il suffira, lors de la mise en marche, de mettre l'écrou mobile en face du nombre de minutes qu'on aura choisi pour la stérilisation, pour que celle-ci se fasse dans le temps voulu.

Ainsi au moment où on atteint  $180^{\circ}$  le contacteur spécial est déplacé et le chauffage est arrêté dans le four qui subit alors une baisse progressive de sa température. Quand celle-ci atteint  $179^{\circ}$  environ, le thermostat coupe la communication entre D et E et l'établit à nouveau entre D et H. Le contacteur M rétablit alors le courant entre PK et NL. Mais le courant n'est pas rompu

dans le contacteur spécial grâce au contact *Bb* qui s'y était établi lorsque la température avait atteint  $180^{\circ}$ . *S* reste donc dans la position qu'il a prise à ce moment. Il s'ensuit que, *C* et *c* restant en contact, la dynamo continuera à compter le temps et ne s'arrêtera que lors de la manœuvre automatique de l'interrupteur *I*.

De même *a* et *A* resteront séparés; le courant de chauffage sera alors shunté par l'adjonction ainsi produite d'une résistance supplémentaire *TX*. L'entretien de la température à  $180^{\circ}$  ne demande en effet pas une grande dépense de courant, tandis qu'il était bon de porter le four assez rapidement à  $180^{\circ}$ .

En résumé, pour effectuer une stérilisation avec cet appareil on n'a qu'à mettre l'écrou mobile en face du nombre de minutes choisi pour la stérilisation et à fermer l'interrupteur du secteur. Le courant chauffe le four à  $180^{\circ}$ , la température oscille légèrement autour de  $180^{\circ}$  pendant le temps qu'on a fixé pour la stérilisation. Quand ce temps est écoulé, automatiquement tout courant est interrompu dans le four et ses accessoires électriques, sans qu'on ait à s'en occuper autrement.

Ce four est en service continu depuis plus de quatre ans à l'Institut Pasteur de Lille.

## NOTE ADDITIONNELLE AUX ESSAIS DE PRÉMUNITION CONTRE LA TUBERCULOSE BOVINE PAR LE BCG

par A. DE ASSIS,

Assistant à l'Institut Vital Brazil, Niteroi (Brésil),

et O. DUPONT,

Professeur à l'Ecole Supérieure d'Agriculture et Médecine Vétérinaire,  
Rio de Janeiro (Brésil).

Poursuivant nos études sur la vaccination des bovins par le BCG, dont les résultats ont déjà été partiellement rapportés dans des notes antérieures (1), nous avons continué les inoculations sous-cutanées de ce vaccin sur les veaux du troupeau choisi pour nos expériences dans l'Etat de Rio de Janeiro.

Bien que la protection conférée par le BCG aux bovins, lors de nos essais antérieurs, ait empêché l'apparition de formes de tuberculose contagieuse chez les veaux vaccinés, dont le système ganglionnaire a même été considérablement épargné, tous les viscères étant demeurés indemnes, nous avons pu cependant observer dans quelques cas des lésions ganglionnaires caractéristiques (ganglions œsophagiens et rétro-pharyngiens) déterminées par des bacilles virulents et dont l'inoculation au cobaye a provoqué une infection généralisée.

Il serait désirable, par conséquent, de compléter la vaccination par des mesures de séparation temporaire des animaux nouveau-nés et vaccinés, en les mettant à l'abri des contacts tuberculeux pendant un certain temps et en les alimentant avec du lait exempt de bacilles virulents. Ce sont là, d'ailleurs, les mesures dont Calmette et Guérin ont montré la nécessité.

(1) A. DE ASSIS et OCT. DUPONT (1928), Ensaios de premunição contra a tuberculose bovina pelo BCG. *Bol. Inst. Vital Brazil*, n° 4; Essais de prémunition contre la tuberculose bovine par le BCG. *Ces Annales*, 1928, 42, p. 1480; 1929, 43, p. 996.

Toutefois, pour des motifs d'ordre secondaire, l'adoption stricte des soins d'isolement, même pendant un court laps de temps, nous fut rendue impossible ; de même l'alimentation, qui continua également sans aucune précaution spéciale.

Nous avons donc poursuivi nos expériences en vaccinant 25 veaux nouveau-nés dans des conditions en tous points identiques à celles de nos essais antérieurs : inoculation sous-cutanée, dans les quinze premiers jours de la naissance, de 50 à 100 milligrammes de BCG, et abandon des vaccinés au milieu de bovins adultes en stabulation permanente et porteurs de lésions ouvertes, plus ou moins avancées, de tuberculose.

Les 64 bovins vaccinés par le BCG depuis le début de 1926 n'ont montré jusqu'à ce moment aucune manifestation pathologique attribuable à la vaccination. Il faut remarquer que tous ces animaux ont également subi l'immunisation artificielle contre la « Tristeza » et ont présenté à cette occasion des réactions bénignes de caractère transitoire. Une seule génisse, lors de la deuxième inoculation (vers l'âge d'un an), a présenté au niveau du point inoculé (fanon) un œdème considérable, envahissant, très douloureux, et accompagné de fièvre. Cet incident passager n'arriva d'ailleurs à compromettre en aucune manière la vie de l'animal.

D'un autre côté, nous n'avons pu observer chez aucun des bovins vaccinés ou revaccinés l'apparition de formes cliniques de tuberculose, même chez les vaccinés depuis longtemps. Bien au contraire, tous ces animaux se trouvent en excellent état de santé apparente.

Nous avons à remarquer en outre — et c'est justement ce qui prête un intérêt spécial à la présente note — que les résultats recueillis à l'autopsie de 2 animaux récemment abattus méritent d'être retenus, surtout en vue de la comparaison établie alors avec l'autopsie d'un témoin non vacciné et appartenant au même troupeau.

Nos observations se résument ainsi :

BOUVILLON N° 1. — Né le 6 octobre 1927 et vacciné deux jours après avec 50 milligrammes de BCG. Revacciné à sept mois avec 100 milligrammes de BCG. Abattu le 31 mai 1929 à l'âge de vingt mois. Animal bien développé, en bonne santé, poil luisant. Autopsie : pas de tuberculose viscérale (rate, foie,



poumons, plèvres, reins) ou ganglionnaire (ganglions précruraux, préscapulaires, mésentériques, sublombaraires, hépatiques, rétropharyngiens, œsophagiens, bronchiques, etc). Les coupes histologiques des ganglions rétropharyngiens et œsophagiens n'ont montré aucune trace d'altérations tuberculeuses (follicules intacts, absence de cellules géantes). D'un autre côté, le broyage et l'inoculation de ces ganglions à des cobayes n'entraîna aucune lésion tuberculeuse, les animaux ayant été sacrifiés quarante jours après.

BOUVILLON N° 2. — Né le 30 septembre 1927 et vacciné six jours après avec 50 milligrammes de BCG. Pas de revaccination. Abattu le 31 mai 1929 à l'âge de vingt mois. Animal bien développé, poil luisant. Son autopsie ne montra aucune trace d'infection tuberculeuse dans les viscères (rate, foie, poumons, plèvres, reins), ni dans les ganglions (préscapulaires, cruraux, mésentériques, hépatiques, bronchiques, œsophagiens, rétropharyngiens, etc...). Absence de lésions microscopiques de nature tuberculeuse dans les ganglions rétropharyngiens, dont le broyage et l'inoculation au cobaye ne s'accompagna d'aucun vestige de tuberculose (observation des animaux pendant quarante jours).

BOUVILLON N° 3. — *Témoin*. Né le 8 janvier 1928 et conservé toujours en étroite cohabitation avec les bovins, vaccinés ou non, de l'étable infectée, non vacciné par le BCG. Abattu le 31 mai 1929 à l'âge de seize mois. Animal maigre, à poil terne. Autopsie : a) Plèvre pariétale gauche couverte de séries linéaires de végétations tuberculeuses typiques et montrant sur les coupes histologiques de larges zones de caséification et de nombreuses cellules géantes caractéristiques ; b) Plèvre viscérale avec nombreux nodules tuberculeux ; c) Ganglions bronchiques et œsophagiens avec lésions tuberculeuses calcifiées en partie, d'où il a été possible d'isoler un bacille virulent du type bovin ; d) Ganglions préscapulaires et rétropharyngiens normaux.

Malgré le nombre réduit d'animaux en expérience qu'il nous a été possible d'abattre, le contraste observé entre les sujets vaccinés et le témoin justifie la présente note. En effet, tous ces animaux ont toujours vécu dans les mêmes conditions de logement et d'alimentation, qui furent aussi celles des veaux de notre expérience précédente, à laquelle celle-ci sert de complément. L'absence de lésions tuberculeuses chez nos deux premiers bouvillons vaccinés, plus âgés que le témoin et dont l'un n'avait reçu que 50 milligrammes de BCG depuis vingt mois, fournit une preuve suffisante de la haute protection conférée par la vaccination contre l'infection naturelle des veaux par les bacilles virulents.

Il n'est pas facile de discerner, pour le moment, les raisons exactes de la discordance relative entre nos résultats et ceux des 6 premiers veaux de notre expérience de 1927. Contrairement t

à Rankin (1), Watson (2) dit avoir observé que la protection conférée aux bovins par la vaccination par le BCG est inconstante. Il l'a trouvée efficace dans un premier groupe, mais plus tard, dans un autre lot d'animaux soumis à la même expérience, il dut reconnaître l'existence d'une infection tuberculeuse active,

En ce qui nous concerne, nous penchons à admettre que la vaccination systématique de tous les bovins nouveau-nés par le BCG commencée depuis quelque temps, ayant tari les sources infectantes ouvertes (formes pulmonaires) de la jeune génération, a contribué directement à produire les résultats nettement favorables que nous avons observés. Les travaux et les autopsies à venir nous fixeront définitivement sur ce point.

Nous devons donc continuer à affirmer que la vaccination des bovins nouveau-nés par le BCG est absolument inoffensive, qu'elle élimine les formes cliniques de tuberculose active chez les sujets inoculés et vivant en promiscuité avec un grand nombre d'autres bovins cliniquement tuberculeux, et cela indépendamment de soins spéciaux d'alimentation ou d'isolement précoce.

Nous sommes aujourd'hui en état d'ajouter encore que ces simples mesures de vaccination avec le BCG ont assuré dans quelques cas une protection complète, pendant vingt mois, contre l'infection naturelle.

(1) A. C. RANKIN, Report to the National research Council of Canada. *Canadian Journal of Research*, May 1929, p. 48.

(2) WATSON, cit. par PETROFF and BRANCH (1928), *Bacillus Calmette-Guérin. Americ. Journal of Public Health*, 18, p. 843.

## ERRATA

---

### RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE BCG SES PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES ET IMMUNISANTES

par O. KIRCHNER, directeur de l'Institut allemand  
de recherches sur la tuberculose (Hambourg-Eppendorf).

Dans le texte français de ce mémoire, que je n'ai pas eu l'occasion de revoir, se trouvent les fautes d'impression suivantes :

1° Page 992, ligne 4 d'en bas :

*Au lieu de « ... quelques faits, en très petit nombre, dans lesquels ce procédé a été utilisé ».*

*Lire : « ... faits, en petit nombre, qui semblent prêter à la pensée d'un tel accroissement relatif de virulence ».*

2° Page 993, ligne 14 :

*Au lieu de « ... la moitié des animaux de chaque groupe reçut 3 milligrammes par voie intra-cutanée, l'autre moitié 3 dixièmes de milligramme ».*

*Lire : « ... reçut 0 milligr. 003 ..., l'autre moitié 0 milligr. 0003 ».*

3° Page 993, ligne 6 d'en bas :

*Au lieu de « ... que l'on sacrifiait après cinq à huit semaines ... ».*

*Lire : « ... cinq à huit mois ... ».*

4° Page 993, ligne 4 d'en bas :

*Au lieu de « ... les cobayes témoins, sacrifiés après quatre mois, accusaient une tuberculose ... ».*

*Lire : « ... les cobayes témoins accusaient à partir du quatrième mois ... ».*

5° Page 994, ligne 10 :

*Au lieu de « ... par voie intra-cutanée 3 milligrammes de bacilles tuberculeux virulents ... ».*

*Lire : « ... 0 milligr. 003 ... ».*

---

*Dans le mémoire de Herbert Buschmann (n° de Juillet, p. 838) les figures 10 et 11 doivent être interverties.*

---

*Le Gérant : G. MASSON.*







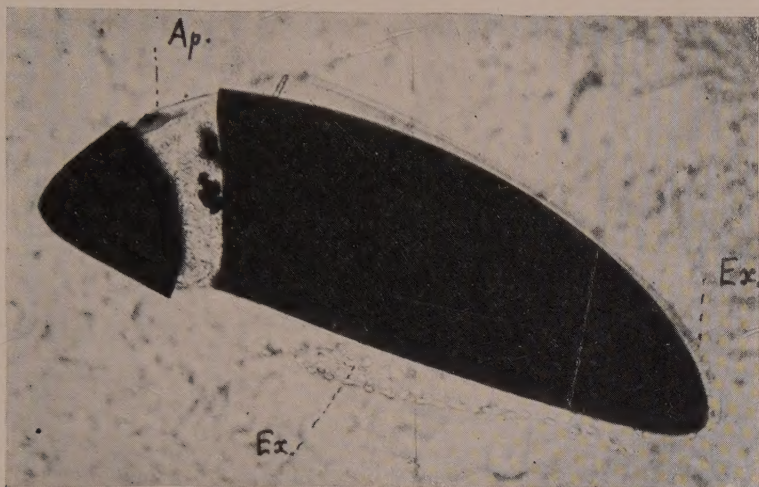


FIG. 1. — Eclosion au choc d'un œuf de *Stegomyia*. Le cône antérieur de l'œuf, découpé et détaché sous l'action de l'appareil d'éclosion *Ap.*, est rejeté en avant, laissant apercevoir les taches oculaires et les joues de la larve. On aperçoit à la périphérie de l'œuf la membrane mince de l'exochorion *Ex.* avec ses ornements caractéristiques. (Phot. Jeantet).

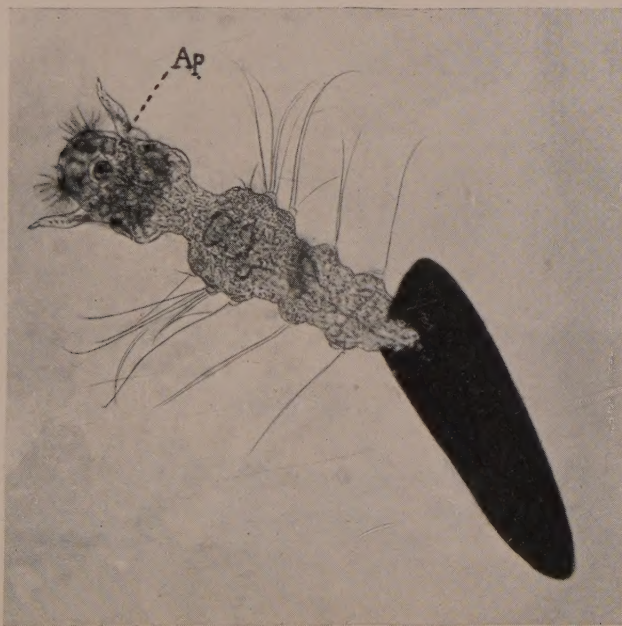


FIG. 2. — Eclosion provoquée d'un œuf durable, sous l'action de l'hypochlorite. *Ap.* appareil d'éclosion au centre de la région céphalique. La paroi de l'œuf est dépouillée de l'exochorion.

